EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
A.v.MURALT · L.RUZICKA · J.WEIGLE
Bern Zürich Genève

Redactor: P.-D. Dr. H. Mislin, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

UNIVERSITY OF HAWAI'
LIBRARY

Vol. III - Fasc. 4 15. IV. 1947 Fr. 2.—

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

E. J. Cohn: Chemical, Physiological, and Immunological Properties and Clinical Uses of Blood Derivatives 125
O. Hoffmann-Ostenhof: Die Biochemie der Chinone 137

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief reports

H. Blattner, B. Matthias, W. Merz, P. Scherrer: Untersuchungen an Bariumtitanat-Einkristallen 148
E. Brandenberger: Die Kristallstruktur von $K(CdCl_3)$ 149
R. N. Chakravarti: Alkyl Substituents and the Cyclisation of Esters 149
K. Hölzle: Ringschlußversuche mit halogenierten Naphthalinthioglykolsäuren 149
H. Deuel: Über Ester der Polygalakturonsäure 151
O. Hoffmann-Ostenhof: Über den Wirkungsmechanismus der Katalase 152
Hs. Nitschmann und W. Lehmann: Elektrophoretische Differenzierung von Säure- und Labcasein 153
L. Massart, G. Peeters, J. de Ley, and R. Vercauteren: The Influence of Salts on the Inhibition of the Respiration of Baker's Yeast by Basic Dyes 154
E. Boeri and A. Vescia: On the Existence of Intermediate Compounds between Hemoglobin (wholly ferrous) and Methemoglobin (wholly ferric) 155
M. Vogt: Beeinflussung der Antennendifferenzierung durch Colchicin bei der *Drosophila*-mutante *Aristopedia* 156
M. Eisentraut: Die mit Hilfe der Beringungsmethode erzielten Ergebnisse über Lebensdauer und jährliche Verlustziffern bei *Myotis myotis* Borkh. 157
J. H. Bijtel: The mechanism of movement of the gill-filaments in Teleostei 158
J. J. Bouckaert et A. van Loo: Au sujet de la mesure des modifications de l'adrénalino-sécrétion (Pro Laboratorio) 160
G. Barac: Détermination du volume plasmatique du Chien, à l'aide du bleu d'Evans T. 1824 (Pro Laboratorio) 161

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Mathematical Methods of Statistics. By Harald Cramér (Princeton University Press, Princeton 1946) (Ref. E. Zwinggi) 162
Structures of metals. By Charles S. Barrett (McGraw-Hill Book Co., Inc., New York and London 1943) (Ref. W. Nowacki) 163
Le problème des eaux potables et des eaux usées. Par M. Bornand (Librairie de l'Université F. Rouge, Lausanne 1945) (Ref. H. Mohler) 163
Marine Microbiology. By Claude E. ZoBell (The Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., U.S.A.; N. V. Erven, P. Noordhoff, Groningen, Holland 1946) (Ref. Hubert Bloch) . 163
Nova: Revues – Zeitschriften – Riviste – Journals 164

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Experientia majorum – Discours de F. Joliot-Curie: *Paul Langevin* – Constructiones: Tschechoslowakei – Unesco 165/168

«Experientia» publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;

2. de *brèves communications;*

3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

«Experientia» si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi,* in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;

2. *brevi comunicazioni*

3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni,* come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

Die «Experientia» stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;

2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;

3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher,* durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

The aim of «Experientia» is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;

2. to publish *brief reports;*

3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings,* as well as through other communications.

EXPER.

L'«Experientia» paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 2.—. Abonnement pour un an fr. 20.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 24.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'«Experientia» exclusivement à l'éditeur soussigné.

Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant.

Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 100 tirés à part de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.

Prix pour les annonces, en Suisse: 1/1 page fr. 200.—, 1/2 page fr. 120.—, 1/4 page fr. 70.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Annonces: *Senger-Annoncen,* Zurich 2, Gotthardstraße 61, tél. 25 22 02; Bâle: tél. 3 74 92.

L'«Experientia» est imprimée en Suisse.

Editions Birkhæuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstraße 15, tél. 4 98 00; adresse télégraphique: Edita Bâle.

Die «Experientia» erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt beim unterzeichneten Verlag bezogen werden. Der Preis einer Einzelnummer beträgt Fr. 2.—. Das Jahresabonnement kostet in der Schweiz Fr. 20.—; im Ausland Fr. 24.—. Preise in Schweizer Währung.

Alle Zuschriften an die Redaktion der «Experientia» sind ausschließlich an den unterzeichneten Verlag zu richten.

Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d. h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.

Die Autoren erhalten auf Wunsch 100 Gratisseparatabzüge im Format 14,5 × 21 cm ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Sonderdrucke und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separatabzüge sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Preise für Inlandanzeigen: 1/1 Seite Fr. 200.—, 1/2 Seite Fr. 120.—, 1/4 Seite Fr. 70.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme: *Senger-Annoncen,* Zürich 2, Gotthardstraße 61, Tel. 25 22 02; Basel: Tel. 3 74 92.

Die «Experientia» wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstraße 15, Tel. 4 98 00; Telegrammadresse: Edita Basel

---

«Experientia» esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 2.—. L'abbonamento annuo è di fr. 20.— per la Svizzera; all'estero fr. 24.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

Tutti gli invii alla redazione di «Experientia» vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.

La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.

Gli autori ricevono, su desiderio, 100 estratti del formato 14,5 × 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati prima della stampa della Rivista.

Prezzi per annunci in Svizzera: 1/1 pag. fr. 200.—, 1/2 pag. fr. 120.—, 1/4 pag. fr. 70.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare a *Senger-Annoncen,* Zurigo 2, Gotthardstraße 61, tel. 25 22 02; Basilea: tel. 3 74 92.

«Experientia» si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhæuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstraße 15, tel. 4 98 00; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea.

«Experientia» is published on the 15th of every month, and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 2.—, by annual subscription by inland-mail fr. 20.—; other countries fr. 24.—. Prices in Swiss currency.

All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10th of the preceding month.

The authors receive, on request, 100 reprints 14,5 × 21 cm without cover free of charge.

For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered before the number is printed.

Prices for inland-advertising: 1/1 page fr. 200.—; 1/2 page fr. 120.—, 1/4 page fr. 70.—. Advertisements should be sent to *Senger-Annoncen,* Zurich 2, Gotthardstraße 61, phone 25 22 02; Basle: phone 3 74 92.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstraße 15, phone 4 98 00; Telegrams: Edita Basle.

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

MILLIMETER- UND LOGARITHMEN-PAPIERE

ED. AERNI-LEUCH, BERN
Fabrikation technischer Papiere

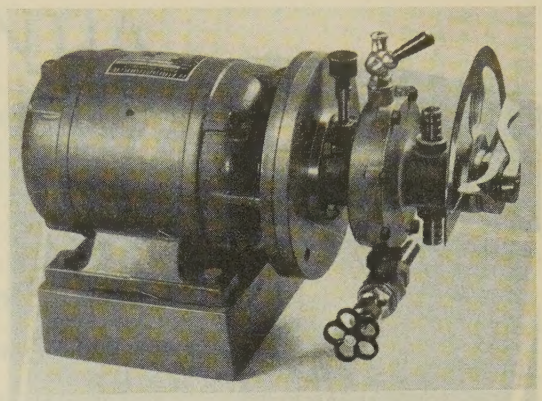
EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

Einbanddecke für 1946

Preis Fr. 4.80 + –.20 Wust + –.25 Porto = Fr. 5.25

VERLAG BIRKHÄUSER AG · BASEL 10
Postcheckkonto V 16673



Turbo-Emulgiermaschine KBC

Diese patentierte Neukonstruktion zeichnet sich durch ihre gedrungene Bauweise aus.

Sie ist mit dem Motor direkt gekuppelt; das Laufrad, wie auch die Schikanen des Gehäuses sind so ausgebildet, daß die zu emulgierenden Flüssigkeiten sehr kräftig durchgemischt werden.

Die Dosierung der zu emulgierenden Flüssigkeiten erfolgt durch Einstellen von 2 zentrisch angeordneten Regulierhahnen, die mit einer großen Skala versehen sind.

Geringer Kraftbedarf – 1,25 PS. Ausführung in Bronze oder rostfreiem Stahl.

KOEHLER, BOSSHARDT & CIE.
BASEL 19

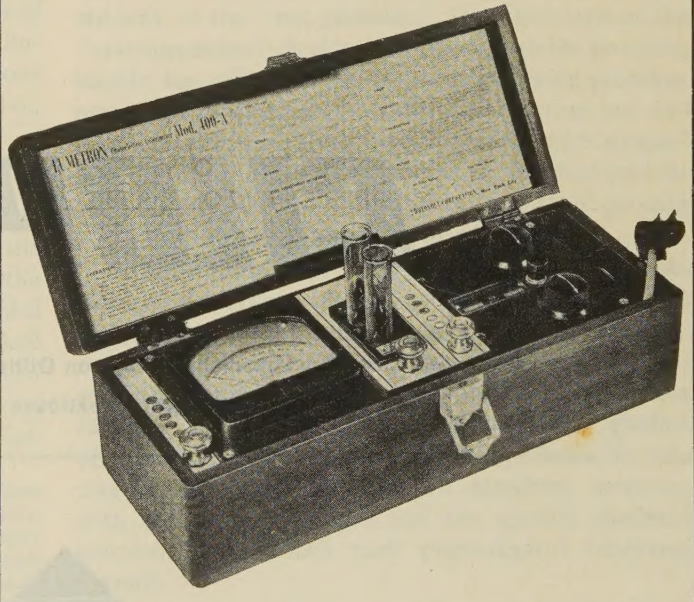
HELVETICA
PHYSICA ACTA

Jährlich 6 *bis* 8 *Hefte*

Abonnementspreis:
Schweiz Fr. 28.–, *Ausland Fr.* 34.–

Die «Helvetica physica acta» sind das offizielle Organ der Schweiz. physikalischen Gesellschaft. Sie enthalten weitaus den größten Teil aller in der Schweiz oder von Schweizern im Ausland veröffentlichten wissenschaftlichen Arbeiten aus allen Gebieten der Physik, sowohl experimentelle als auch theoretische Untersuchungen. Die Arbeiten erscheinen in den schweizerischen Landessprachen. – Für Mitglieder der Schweiz. physikalischen Gesellschaft ist der Abonnementspreis in der Schweiz Fr. 18.50, im Ausland Fr. 24. .

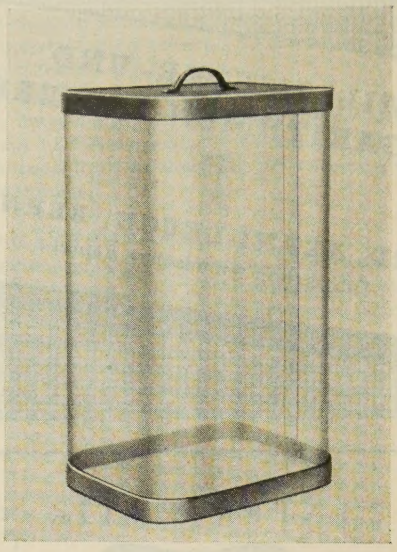
VERLAG BIRKHÄUSER AG.
BASEL



Colorimètre clinique photoélectrique

Résultats précis - Facile à manipuler
Fidélité permanente - Voltage stabilisé

STRÜBIN & CO.
OPTIK - PHOTO - KINO
Gerbergasse 25, Basel Tel. (061) 4 46 00



Mikroskopglocken

Schutzkästen für Waagen etc. aus *durchsichtigem* Kunststoff fertigen wir in jeder Größe an

Verlangen Sie Offerte

CARL KIRCHNER AG., BERN

Freiestraße 12 Telephon 2 45 97

CILOPRIN

Indikationen: Zur Lokalbehandlung von Otitis media, Otitis media purulenta, Otitis chronica und anderen infektiösen Prozessen des Gehörganges

CILAG

SCHAFFHAUSEN

EXPERIENTIA

Vol. III - Fasc. 4 Pag. 125–168 15. IV. 1947

Chemical, Physiological, and Immunological Properties and Clinical Uses of Blood Derivatives[1,2]

By EDWIN J. COHN, Boston, Mass.[3]

The chemistry of any biological system, plant or animal, depends upon the chemistry of the proteins, those nitrogenous molecules called "of the first importance" by MULDER over a century ago. Proteins combine with lipids and with carbohydrates, with vitamins, with fatty acids and with metals, with pigments, with dyes and drugs, with salts and with each other. Proteins may thus be lipoproteins, glycoproteins, mucoproteins, hemeproteins, or they may be enzymes, hormones or antibodies.

The separation and concentration of the various proteins of human plasma was undertaken during this war in order to render as many as possible available as specific therapeutic agents, of value in different conditions, and thus to increase our knowledge and control of the composition of the blood in health and in disease. For precisely as the respiratory function of the blood is performed by the red cells, so the many important physiological and immunological functions of the plasma are performed by its diverse, reactive, protein components.

Discovery of the Protein Components of Plasma

Recognition of the specific chemical functions of the various protein components of the plasma began in the eighteenth century. In his book, "An Experimental Inquiry into the Properties of the Blood", published in 1771, HEWSON described the separation of fibrinogen from plasma: "When fresh blood is received into a bason, and suffered to rest, in a few minutes it jellies, or coagulates, and soon after separates into two parts, distinguished by the names of *crassamentum* and *serum*."

"It is well known, that the *crassamentum* consists of two parts, of which one gives it solidity, and is by some called the fibrous part of the blood, ... and of another, which gives the red colour to the blood, and is called the *red globules*. These two parts can be separated by washing the *crassamentum* in water, the red particles dissolving in the water, whilst the "fibrous part" remains solid. That it is "the fibrous part" which gives firmness to the *crassamentum*, is proved by agitating fresh blood with a stick, so as to collect this substance on the stick, in which case the rest of the blood remains fluid."[1]

HEWSON thus recognized the water-soluble constituent of the "red globules", the fibrinogen of the "crassamentum" or clot, and the coagulable proteins, largely the albumins, of the serum. Serum proteins, insoluable in water at a slightly acid reaction but dissolved by salt, were recognized by DENIS and SCHERER[2] in 1841. Over a century ago, therefore, the chief protein component of the red cells and at least three protein components of plasma had been recognized.

We now know that the pigment of the "red globules", is the oxygen-combining, iron-containing, prosthetic group of the protein, hemoglobin, and that the red blood cells contain in addition a large number of recently discovered protein components, among them carbonic anhydrase, catalase, phosphatase, choline esterase, hypertensinase and other peptidases. In this communication we shall concern ourselves, however, with the plasma proteins and the specific chemical reactions upon which their physiological functions depend.

The relation of fibrinogen to the clotting of the blood was implicit in HEWSON's discovery. Although HEWSON found ways of blocking fibrin formation it remained for ANDREW BUCHANAN to demonstrate, in 1845, "that fibrin has not the least tendency to deposit itself spontaneously in the form of a coagulum: that like

[1] This paper is Number 62 in the series "Studies on Plasma Proteins" from the Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, on products developed by the Department of Physical Chemistry from blood collected by the American Red Cross. The large number of colleagues who have collaborated, and the organizational pattern which made these studies possible, are referred to in reference [4] and more fully in reference [5]. Much of this work was carried out under contract recommended by the Committee on Medical Research to the Office of Scientific Research and Development.

[2] An address given, as visiting lecturer of the American-Swiss Foundation for Scientific Exchange, in Bern, February 27; in Zurich, March 3, and in Geneva, March 17, 1947.

[3] Department of Physical Chemistry, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts.

[4] E. J. COHN, Medicine *24*, 333 (1945).

[5] E. J. COHN, Advances in Military Medicine: The History of the Committee on Medical Research, Chapter 28, Plasma Fractionation, in press.

[1] W. HEWSON, An Experimental Inquiry into the Properties of the Blood, pp. 6–7. T. Cadell, London, 1771.

[2] J. SCHERER, Liebigs Ann. Chem. u. Pharm. 40, 1 (1841).

albumen and casein, fibrin only coagulates under the influence of suitable reagents: and that the blood, and most other liquids of the body which appear to coagulate spontaneously, only do so, in consequence of their containing at once fibrin and substances capable of reacting upon it, and so occasioning coagulation"[1]. The substance which BUCHANAN noted by virtue of its physiological action, was presumably thrombin. Satisfactory studies upon thrombin as a globulin, were, however, not carried out until this century[2].

Physical Properties of Plasma Proteins

Meanwhile albumins and other globulins had been noted in terms of chemical properties, often however, without these properties being associated with specific biological functions. The chemical studies which have continued during the last century have yielded relatively pure preparations of albumins and demonstrated that there were many kinds of globulins.

Molecular Dimensions of Plasma Proteins. Although there is evidence of more than one albumin[3], all serum albumins that have been studied thus far, of human or animal origin, have closely similar molecular properties; isoelectric points near p_H 4·9, molecular weights near 70,000, and molecular dimensions described as ellipsoids 150 Å in length and 38 Å in width. All plasma proteins thus far investigated have diameters of this magnitude or greater. If the smallest dimension is less, the molecule appears not to be retained in the blood stream, but to be lost through the kidney. Among molecules of the same diameter, where loss occurs it appears to be inversely related to the length of the molecule. This should apply not only to rod-shaped molecules of diameters of the order of 20 Å or less[4, 5], but also to the plasma proteins under pathological conditions. Among plasma proteins with roughly the same diameter, of 38 Å, the β_1-globulins, which combine and transport copper and iron, have been estimated to have a length of 190 Å, the γ-globulins, concerned with immunity, of 235 Å, and fibrinogen, concerned with blood coagulation, of 700 Å[6] (Table I).

The viscosity of proteins depends, of course, not upon their size but upon their asymmetry. Thus fibrinogen, the most asymmetrical of the plasma proteins has an intrinsic viscosity six times that of albumin. Were it present in the plasma in large amounts, instead of to but 4 per cent, it would impose considerable burden upon the circulation. Serum albumin is far more symmetrical; a 25 per cent solution being isoviscous with blood[1].

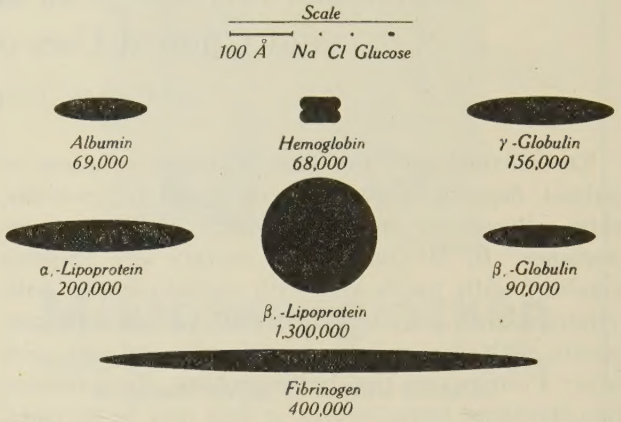


Fig. 1. Relative Dimensions of Various Proteins[2].

The albumins are furthermore at once the most stable, the smallest and the most copious of the plasma proteins. Present in normal plasma to just over 50 per cent they are responsible for nearly 80 per cent of the colloid osmotic pressure which regulates the equilibrium in water and electrolytes between the plasma and the tissues, and thus play the major role in maintaining the volume of the blood upon which normal circulation depends[3].

The molecular size and shape of proteins, once they are separated as homogenous chemical components, may be estimated by measurements of osmotic pressure and of viscosity. The ultracentrifuge renders it possible, however, to distinguish proteins of different molecular dimensions even in so complex a mixture as the plasma. The constant defining the speed of motion of a protein in the field of the ultracentrifuge, for the development of which we are indebted to SVEDBERG[4], has revealed proteins sedimenting in plasma with four very different velocities[5]. Those sedimenting with the smallest velocity include the al-

[1] A. BUCHANAN, London Med. Gaz. *1*, 617 (1845).

[2] J. MELLANBY, Proc. Roy. Soc. London, s. B *107*, 271 (1930); Proc. Roy. Soc. London, s. B *113*, 93 (1933). – W. H. SEEGERS, J. Biol. Chem. *136*, 103 (1940). – W. H. SEEGERS and D. A. MCGINTY, J. Biol. Chem. *146*, 511 (1942). – H. P. SMITH, Ann. Rev. Physiol. *4*, 245 (1942). – W. H. SEEGERS, E. C. LOOMIS and J. M. VANDENBELT, Arch. Biochem. *6*, 85 (1945).

[3] S. P. L. SØRENSEN, C. r. Trav. Lab. Carlsberg *18*, N° 5 (1930). – L. F. HEWITT, Biochem. J. *30*, 2229 (1936); *31*, 360 (1937). – R. M. FERRY and J. L. ONCLEY, J. Amer. Chem. Soc. *60*, 1123 (1938). – J. A. LUETSCHER, Jr., J. Amer. Chem. Soc. *61*, 2888 (1939). – T. L. MCMEEKIN, J. Amer. Chem. Soc. *62*, 3393 (1940).

[4] E. J. COHN, Proc. Amer. Philos. Soc. *88*, 159 (1944).

[5] Characteristic of the various suggested blood substitutes which were examined, but not recommended to the Armed Forces.

[6] J. L. ONCLEY, G. SCATCHARD, and A. BROWN, J. Phys. and Coll. Chem. *51*, 184 (1947).

[1] E. J. COHN, Chem. Rev. *28*, 395 (1941); Trans. and Studies of Coll. of Phys. of Philadelphia *10*, 149 (1942); Medicine *24*, 333 (1945).

[2] This figure is revised from E. J. COHN, Amer. Scientist *33*, 61 (1945) on the basis of the molecular dimensions given in Table I.

[3] E. J. COHN, Proc. Amer. Philos. Soc. *88*, 159 (1944). – G. SCATCHARD, A. C. BATCHELDER, and A. BROWN, J. Clin. Invest. *23*, 458 (1944).

[4] T. SVEDBERG and K. O. PEDERSEN, The Ultracentrifuge. Clarendon Press, Oxford 1940.

[5] P. VON MUTZENBECHER, Biochem. Z. *266*, 226 (1933); *ib. 266*, 250 (1933); *ib. 266*, 259 (1933). – A. S. MCFARLANE, Biochem. J. *29*, 407, 660, 1175, 1202 (1935). – K. O. PEDERSEN, Ultracentrifugal Studies on Serum and Serum Fractions. Almqvist and Wiksells Boktryckeri AB, Uppsala, Sweden, 1945. – J. L. ONCLEY, G. SCATCHARD, and A. BROWN, J. Phys. and Coll. Chem. *51*, 184 (1947).

Table I

Physical Properties of certain separated Plasma Proteins*

	Concentrated in Fraction	Sedimentation Constant $S_{20,w}$	Partial Specific Volume V	Intrinsic Viscosity $H_0 \cdot 10^2$	Molecular Weight M	Approximate Dimensions in Å	
						Diameter	Length
Serum Albumin	V	4·6	0·733	4·2	69,000	38	150
β_1-Metal-Combining Protein	IV-7	5·5	0·725	5·5	90,000	37	190
γ-Globulin	II	7·2	0·739	·6·	156,000	44	235
Fibrinogen	I	9·		25·	400,000	38	700
α_1-Lipoprotein**	IV-1	5·	0·841	6·6	200,000	50	300
β_1-Lipoprotein**	III-0	X	0·950	4·1	1,300,000	185	185

* The values in this table are taken from [1].

** The α-lipoproteins contain 35% lipid, and the β_1-lipoprotein, 75% lipid. The high lipid content explains the high values for partial specific volume. Osmotic pressure studies suggest apparent molecular weights lower than the values recorded here, and considerable leakage through the membranes used, which were tight to most plasma proteins. This observation has been interpreted as indicating an equilibrium between some of the lipid and the lipoprotein.

bumins and certain globulins. The other globulins which have been separated and fibrinogen sediment with other velocities. However, ultracentrifugal analysis does not permit us to distinguish a large number of components in the plasma.

Electrophoretic Mobilities of Plasma Proteins. Solubility studies during the nineteenth century indicated that there were many globulins and classified them as euglobulin or pseudoglobulin, depending upon their insolubility or solubility, in the absence of salt, or in concentrated salt solutions. Electrophoretic analysis, refined by TISELIUS, distinguished serum globulins in terms of their mobility in an electric field and designated them α-, β-, and γ-globulins[2]. Better resolution, by the optical system employed in the analysis, has revealed more than one α-, more than one β-, and more than one γ-globulin. Two α-globulins, α_1- and α_2-, two β-globulins, β_1- and β_2-, and two γ-globulins, γ_1- and γ_2-, the second one, in animals, sometimes termed a T-globulin, are now often designated. If we include the results of electrophoretic analyses the number of protein components of plasma recognized by physico-chemical means has thus increased to nine or more from the three recognized a century ago.

Chemical Interactions of Plasma Proteins

Hormones. A very large number of protein components of the plasma has been postulated on the basis of physiological or immunological properties. Some of these have been concentrated and characterized. Others, like the hormones, are by definition components of the blood, but have rarely been separated from it. Certain of them have been detected in plasma, or in a plasma fraction[1]. Our chemical knowledge of protein hormones, however, has thus far largely been derived from the study of those separated from glandular extracts. Whether their molecular states in the gland are the same as those in which they are released into and transported by the blood stream remains, in most cases, to be determined. In the case of the steroid hormones, the relation of these water-insoluble organic molecules to the lipoproteins of the plasma renders possible the study of the state of steroids in the blood.

Lipoproteins. Recent investigations have demonstrated the presence of different lipoproteins in the plasma, moving in the electric field respectively with the mobilities of α_1- and β_1-globulins. One of these lipoproteins is an asymmetrical molecule with a molecular weight of roughly 200,000. Another is a large spherical lipoprotein with a molecular weight of over a million[2]. These lipoproteins are noteworthy both because of their physical properties and because they render soluble such water-insoluble lipids as cholesterol, carotene and the steroids and because the specificity of their interactions is such that one of the estrogen hormones, estriol, has been found to be combined not with all, but only with one of these lipoproteins, the large spherical β_1-lipoprotein[3].

Immunoproteins. Immunological studies have led to the recognition and the study of complement and

[1] J. L. ONCLEY, G. SCATCHARD, and A. BROWN, J. Phys. and Coll. Chem. *51*, 184 (1947).

[2] A. TISELIUS, Trans. Faraday Soc. *33*, 524 (1937). – L. G. LONGSWORTH, Chem. Rev. *30*, 323 (1942). – S. H. ARMSTRONG, Jr., M. J. E. BUDKA and K. C. MORRISON, J. Amer. Chem. Soc. *69*, 416 (1947).

[1] E. J. COHN, J. L. ONCLEY, L. E. STRONG, W. L. HUGHES, Jr., and S. H. ARMSTRONG, Jr., J. Clin. Invest. *23*, 417 (1944).

[2] J. L. ONCLEY, G. SCATCHARD, and A. BROWN, J. Phys. and Coll. Chem. *51*, 184 (1947).

[3] C. M. SZEGO and S. ROBERTS, Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. *61*, 161 (1946). – S. ROBERTS and C. M. SZEGO, Endocrinology *39*, 183, (1946).

its components[1], and of a variety of antibodies[2]. Antibodies have been characterized, as euglobulins and as pseudoglobulins, in terms of their solubilities. Many, but not all, antibodies have been characterized as γ-globulins in terms of their electrophoretic mobilities. Among γ-globulins some have been described of very high molecular weight, others of molecular weights of the order of 156,000. For the most part, however, these immuno-chemical studies have not led to the isolation of pure antibodies of which there could conceivably be as many as the antigens which have led to the production by the body of specific antibodies (Table II).

Enzymes. Prothrombin is presumably present in the body in but small amount and the action of thrombin is now generally regarded as enzymatic. The presence of a large number of other enzymes has since been demonstrated by virtue of their sepcific interactions. Thus there is the proteolytic, fibrinolytic, enzyme now called plasmin, a well-defined serum esterase, two phosphatases, a lipase, an amylase, and a number of peptidases, among them hypertensinase. Most of these substances are far better known in terms of their chemical interactions than of their molecular properties.

Albumins. Until recently the greatest emphasis has been upon the osmotic function of the albumins in maintaining the equilibrium between water and electrolytes in the blood and the tissues. The development of normal human serum albumin for use in military medicine, for the treatment of shock, burns and hyperproteinemia, depended upon the molecular properties of albumin. However, as Bennhold[3] and later investigators[4] suggested, albumins interact with a variety of smaller molecules, notably with non-polar anions such as aliphatic fatty acids[5] and are presumably responsible for their transport in the blood stream. Albumins also interact with a variety of dyes[3] including Evan's blue, often used in estimating blood volume[6] with naphthaquinones[7] such as those developed as anti-malarials[8] and with a variety of other dyes[9]. Albumins also combine with a variety of drugs, such as atabrin, neosalvarsan[1], and digitoxin[2], mercurials[3] and sulfa drugs[4].

Crystallized Human Serum Albumins. Not all of the porperties that have been ascribed to the albumins are due to these molecules. In order to demonstrate this, it was necessary to prepare highly purified crystallized human serum albumins[5].

Human serum albumins that had been crystallized by earlier methods were demonstrated to contain over two per cent of long chain fatty acid[6]. The albumins that we have crystallized, in very satisfactory yield, from alcohol-water mixtures of defined p_H and ionic strength at low temperatures also contained fatty acid, but the amounts present were far smaller; of the order of one mole stearic acid per mole of albumin. The fatty acid appeared to form an integral part of the crystal structure and, in fact, crystallization has been demonstrated to be greatly aided by the presence of such amounts of fatty acid and by the addition of higher alcohols such as n-decanol. The amounts of the alcohol that have been found useful and with which the albumins combine range from two to ten moles per mole. Crystallized with the aid of such reagents, albumins can be recrystallized under a variety of physical chemical conditions and in a variety of crystal forms.

The resolution of the various albumins that crystallize together required a more specific method of crystallization in order to yield chemical individuals. Conditions for crystallizing horse serum albumin of constant solubility had been determined in our laboratory before the war by McMeekin[7]. This method has thus far not been found effective for crystallizing a fraction of human serum albumin. However, a fraction of the human serum albumins crystallized by the decanol method has been found by W. L. Hughes, Jr., to form a relatively insoluble crystalline mercury compound (see Figure 2 and Reference [8]). The albumin separated in this way appears to be a chemical individual whose solubility behavior approximates to that of a simple chemical substance.

Although serum albumins combine with a larger number of equivalents of mercury the amount with the albumin in the solid phase is but one-half a mole of mercury per mole albumin. That is to say, each mole of mercury appears to be combined with two albumin molecules in the solid state. In solution,

[1] L. Pillemer, E. E. Ecker, J. L. Oncley, and E. J. Cohn, J. Exper. Med. *74*, 297 (1941). – L. Pillemer, Chem. Rev. *33*, 1 (1943). – M. Heidelberger, Amer. Sci. *34*, 597 (1946).

[2] J. F. Enders, J. Clin. Invest. *23*, 510 (1944).

[3] H. Bennhold, E. Kylin, and S. Rusznyak, Die Eiweißkörper des Blutplasmas. Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig 1938.

[4] R. J. Dubos and B. D. Davis, J. Exper. Med. *83*, 409 (1946).

[5] G. A. Ballou, P. D. Boyer, J. M. Luck, and F. G. Lum, J. Clin. Invest. *23*, 454 (1944); J. Biol. Chem. *153*, 589 (1944). – P. D. Boyer, G. A. Ballou, and J. M. Luck, J. Biol. Chem. *162*, 199 (1946). – P. D. Boyer, F. G. Lum, G. A. Ballou, J. M. Luck, and R. G. Rice, J. Biol. Chem. *162*, 181 (1946).

[6] R. A. Rawson, Amer. J. Physiol. *138*, 708 (1943).

[7] The specificity of the interaction of albumins with certain dyes and naphthaquinones has led to preliminary studies by L. E. Strong and D. Mittelman on their use in estimating serum albumins by a colorimetric method.

[8] L. Fieser and H. Heymann, Publication in press.

[9] I. M. Klotz, J. M. Longfellow, and O. H. Johnson, Science *104*, 264 (1946). – I. M. Klotz, F. M. Walker, and R. B. Pivan, J. Amer. Chem. Soc. *68*, 1486 (1946). – I. M. Klotz, J. Amer. Chem. Soc. *68*, 2299 (1946).

[1] H. Bennhold, E. Kylin, and S. Rusznyak, Die Eiweißkörper des Blutplasmas. Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig 1938.

[2] A. Farah, J. Pharm. and Exper. Therapeutics *83*, 143 (1945).

[3] L. M. Woodruff and S. T. Gibson, unpublished observations.

[4] B. D. Davis, J. Clin. Invest. *22*, 753 (1943). – G. Derouaux, Acta Biol. Belgica *3–4*, 170 (1943).

[5] E. J. Cohn and W. L. Hughes, Jr., J. Amer. Chem. Soc., in press.

[6] F. E. Kendall, J. Biol. Chem. *138*, 97 (1941).

[7] T. L. McMeekin, J. Amer. Chem. Soc. *61*, 2884 (1939).

[8] E. J. Cohn, Advances in Military Medicine: The History of the Committee on Medical Research, Chapter 28, Plasma Fractionation, in press.

Table II

Protein Components of Human Plasma separated and concentrated in Diverse Fractions

Protein Component	Estimated Amount in 100 g. Plasma Protein gms	Concentrated in Fraction[4]	Approximate Isoelectric Point	Specific Chemical Interaction
Fibrinogen	4	I-2	5·3	Thrombin
Non-Clottable Protein, insoluble at low temperature	0·15	I-1		
Antihemophilic Globulin[1]		I		
Antibody γ-Globulins: Diphtheria Antibodies[1]	(0·001)			
Measles Antibodies[1]				
Mumps Antibodies[1]				
Streptococci Antitoxin[1]	11	II	7·3	Antigens
Influenza Antibodies[1]				
Pertussis Antibodies[1]				
Typhoid "H" Agglutinins[1]				
Antibody Euglobulins: Typhoid "O" Agglutinins[1]		III-1		Antigens
Isoagglutinins: Anti-A, Anti-B[1]	(0·03)	III-1	6·3	Incompatible Red Blood Cells
Anti-Rh Antibodies[1]				
Complement Components: C′1	0·4	III-2[2]		Antigen-Antibody Complex
C′2		IV[2]		
Enzyme Precursors: Prothrombin	0·3	III-2		Thromboplastin
Plasminogen		III-3		Streptokinase
Serum Enzymes: Thrombin[1]		III-2	4·8	Fibrinogen
Plasmin[1]		III-3		Proteins
Amylase[1]				Starch
Lipase[1]				Lipid
Peptidase[1]		IV		*l*-Leucylglycylglycine
Phosphatase[1] (alkaline)		IV[2]		Phosphoric Acid Monoesters
Esterase[1]	0·02	IV-6	4·5	Acetyl Choline, Ethylbutyrate
Metal-Combining β_1-Pseudoglobulin: crystallized	2·5	IV-7	5·6	Iron and Copper
High Molecular Weight β_1-Globulins (Lipid-poor) S = 7	2	III-0		
S = 20	1	III-0		
Iodoprotein[1, 3]		IV-6		
Thyrotropic Hormone[1]		IV-4		
Glycoproteins: α_2-Glyco-pseudoglobulin	0.7	IV-6	4·9	
α_2-Mucoid Globulin	0·5	IV-6	4·9	
Lipoproteins: β_1; 75% Lipid-Containing "X"-Protein	5	III-0	5·6	Estriol, Carotenoids, and other Steroids
α_1; 35% Lipid-Containing Protein	3	IV-0	5·2	Steroids
Blue-Green Pigment α-Globulin		IV-2		
Bilirubin-Containing α_1-Globulin[3]	0·05	V-1	4·7	Diazo-reaction
Albumin: Crystallized with Mercury		V	4·9	Mercury, Decanol
Albumin: Crystallized with Decanol	50	V	4·9	Fatty Acids, Bile Salts, many Dyes and Drugs

[1] These components represent but small proportions of the fraction and subfraction, and their properties cannot, therefore, be deduced from those of the concentrates in which they have been separated.

[2] These components have not been tested for since revision of the fractionation process.

[3] Albumin binds more bilirubin than the bilirubin pigment globulin in Fraction V-1 and more iodine than has been found in Fraction IV-6.

[4] When purified chemical components have been separated from fractions they have not been given new fraction numbers. In that case, the fraction number refers to the starting material for the separation of the component.

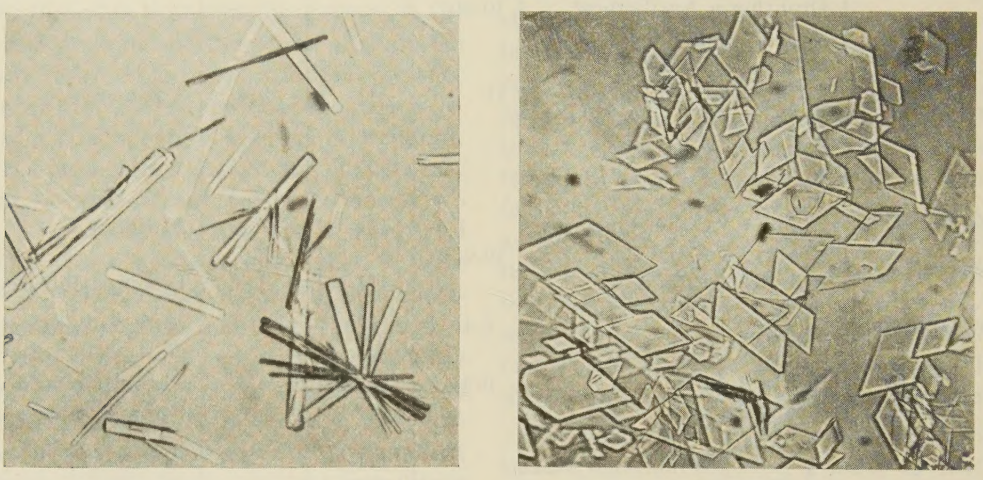
however, this complex dissociates, more near the isoelectric point than in neutral solution where albumin of double molecular weight may be demonstrated in the ultracentrifuge.

Pigment Proteins. Serum albumin had previously been reported to combine with hematin and with bilirubin[1]. Upon adequate recrystallization, the amount of both diminish until they can no longer be readily detected spectrophotometrically. Upon equilibrating such pure serum albumin with these substances, however, combination can be demonstrated and quantitatively estimated. Albumin which we have recrystallized has been studied in equilibrium with hematin[2] and with bilirubin[3]. At alkaline reaction albumin combines with as much as three moles bilirubin per mole albumin. At acid reactions, however, the bilirubin is free and can be removed by dialysis.

Bilirubin is also a component of a true pigment protein of the blood stream, normally present to less than a tenth of a per cent of the plasma proteins. This bilirubin pigment protein interacts strongly and is, therefore, separated with difficulty from the 50 per cent of albumin in plasma. It has now been separated, however, and alone of adequately purified plasma proteins, gives the indirect van den Bergh reaction[4]. Another pigment protein responsible for a very characteristic blue-green color does not give this reaction and although often found associated with crude albumin preparations is a globulin concentrated in our system of fractionation in Fraction IV-1, whereas the yellow pigment, due to bilirubin, is concentrated in Fraction V-1.

Iodoproteins. Iodine combines with essentially all proteins, entering the phenol ring to form diiodotyrosine and also entering the imidazol ring. Albumin rich in iodine has been prepared and crystallized by SALTER from horse serum[1]. In studying the distribution of iodine in the human plasma fractions that we have separated, some has always been found with the albumin, some, however, has been found in Fraction IV-6. The further study of the iodoprotein in these fractions should reveal more regarding the nature of the plasma molecules of which it is a part.

Metal-Combining Proteins. It has long been known that copper, iron and zinc are combined by plasma protein. The separation of the plasma proteins into fractions in which are concentrated the molecules responsible for specific interactions has yielded, in Fraction IV-7, the β_1-globulin responsible for the combination and transport of copper and iron and perhaps of zinc in the plasma. The close interrelation of the copper and iron in plasma had been noted in clinical studies[2]. The combination of a component of plasma with iron was noted in connection with bacterial studies[3] and has led to its identification in a plasma fraction and further purification and characterization in our laboratory[4]. Physiological studies of the role of the



a

Ethanol 25 % $\Gamma/2$ 0·1
Decanol 0·1 % p_H 5·5

b

Ethanol 10 % $\Gamma/2$ 0·05
$HgCl_2$ 0·01 % p_H 5·5

Fig. 2*a*, *b*. Crystalline Human Serum Albumins

[1] H. BENNHOLD, E. KYLIN, and S. RUSZNYAK, Die Eiweißkörper des Blutplasmas. Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig 1938.
[2] M. ROSENFELD, personal communication.
[3] N. H. MARTIN, in preparation.
[4] H. T. MALLOY and K. A. EVELYN, J. Biol. Chem. *119*, 481 (1937).

[1] A. M. BASSETT, A. H. COONS, and W. T. SALTER, Amer. J. Med. Sci. *202*, 516 (1941).
[2] L. HEILMEYER and G. STÜWE, Klin. Wschr. *17.2*, 925 (1938). – L. HEILMEYER, W. KEIDERLING, and G. STÜWE, Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe. Gustav Fischer, Jena 1941. – L. HEILMEYER, Handbuch der Inneren Medizin, Vol. II, Blutkrankheiten, Chapter III. Springer-Verlag, Berlin 1942.
[3] A. L. SCHADE and L. CAROLINE, Science *104*, 340 (1946).
[4] After this manuscript was written, but before the address was given, this metal-combining protein was crystallized in our laboratory in collaboration with B. A. KOECHLIN.

separated protein injected into man have begun[1] with a view to determining its function and possible value in therapy.

Clinical Studies upon Plasma Proteins

As each component of plasma has been prepared in a satisfactory state with respect to concentration, stability, and safety for injection in man, clinical studies have begun to determine its uses in therapy. Let us review briefly the knowledge that has been gained thus far with the various products that have been prepared and used in large amounts.

Normal Human Serum Albumin: Shock: The first clinical studies with normal human serum albumin were aimed at defining its physiological action and value in the treatment of shock. Since it was prepared in concentrated solution for convenience in shipping and storage under military conditions, it was first necessary to prove that its injection in large amount was followed by no untoward reactions and resulted in a shift of fluid across the capillary membrane just as occurred across the artificial membrane in an osmometer. After removing a measured amount of blood from human subjects, the increase in plasma volume which followed the injection of a known amount of concentrated serum albumin was determined. In experiments with volunteers, most of whom were Harvard Medical students, the average increase one hour after injection was found to be 17·4 cc. per gm[2], as compared with the 18 cc. per gm[3] predicted from osmotic pressure measurements. With such excellent agreement between results obtained *in vitro* and *in vivo*, clinical trial of this new product was placed on a firm quantitative basis.

Table III

Effect of concentrated Albumin in Shock

Plasma Volume Increase observed in Patients with Measurements made within 1½ Hours of Injection of Albumin

Type of Case	No. Cases	Plasma Volume Increase cc./gram of injected Albumin	
		Spread	Average
Calculated from Osmotic Pressure Measurements[1]			18
Experimental Hemorrhage in Man[2]	11	13·2–24·1	17·4
Clinical Shock*[3] (No additional saline or small amount)	63	0–31·7	11·7
Clinical Shock*[3] (Additional saline)	20	7–29	17·9

* Newer unpublished, as well as previously published, values[3] are included in this table.

Clinical experience in a number of centers soon demonstrated that albumin could be safely and effectively used also in cases of hemorrhage, trauma, and burns to produce an increase in plasma volume and to bring about clinical improvement. The initial evaluation of albumin in the treatment of shock, led to a report with instruction for its use in May, 1942[4]. In extreme dehydration, as well as in some cases of shock, adequate fluid must be made available, by some route, if maximum hemodilution is to be achieved.

Salt-poor Serum Albumin: Hypoproteinemia. The effect of human serum albumin on hypoproteinemia was next explored, and its safety when administered repeatedly over long periods established[5]. Interest in the use of albumin in the treatment of hypoproteinemic edema, particularly in renal disease, stimulated the development of salt-poor albumin[6], which was made possible by the studies of the stabilization of albumin

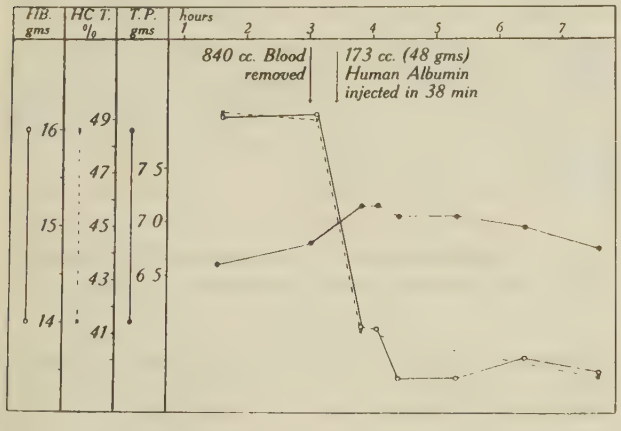


Fig. 3. Changes in the values for the hematocrit, hemoglobin, and plasma protein (falling drop method) in a normal human subject, following a large venesection and the subsequent administration of a concentrated human albumin solution[4].

[1] C. A. Finch, personal communication. – C. Moore, personal communication.

[2] J. T. Heyl, J. G. Gibson 2nd, and C. A. Janeway, J. Clin. Invest. *22*, 763 (1943). – J. T. Heyl and C. A. Janeway, U. S. Nav. M. Bull. *40*, 785 (1942).

[3] G. Scatchard, A. C. Batchelder, and A. Brown, J. Clin. Invest. *23*, 458 (1944).

[4] Reproduced from "Blood Substitutes and Blood Transfusion", Chapter XXI, C. A. Janemay, from data of E. A. Stead, Jr., and R. V. Ebert, Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, 911 (1942).

[1] G. Scatchard, A. C. Batchelder, and A. Brown, J. Clin. Invest. *23*, 458 (1944).

[2] J. T. Heyl, J. G. Gibson, 2nd, and C. A. Janeway, J. Clin. Invest. *22*, 763 (1943).

[3] A. Cournand, R. P. Noble, E. S. Breed, H. D. Lauson, E. De F. Baldwin, G. B. Pinchot, and D. W. Richards, Jr., J. Clin. Invest. *23*, 491, 504 (1944).

[4] L. M. Woodruff and S. T. Gibson, Report to the Subcommittee on Blood Substitutes, Division of Medical Sciences, National Research Council, May 11, 1942; U. S. Nav. M. Bull. *40*, 791 (1942).

[5] C. A. Janeway, S. T. Gibson, L. M. Woodruff, J. T. Heyl, O. T. Bailey, and L. R. Newhouser, J. Clin. Invest. *23*, 465 (1944).

[6] G. Scatchard, L. E. Strong, W. L. Hughes, Jr., J. N. Ashworth, and A. H. Sparrow, J. Clin. Invest. *24*, 671 (1945).

solutions[1]. Albumin is so stable that it alters only slowly even when subjected to high temperatures[2]. By 1945 the specifications for albumin to be used either as a diuretic agent or for the treatment of shock called for a 25 per cent solution of albumin, at p_H 6·8 ± 0·2, stabilized with 0·04 moles per liter of sodium acetyltryptophanate without mercurial preservative, but heated 10 hours at 60° C in the final container. Heating for this period of time has been demonstrated to be sufficient to destroy the virus of homologous serum hepatitis[3]. Proof that salt-poor albumin was as satisfactory for the treatment of shock as the albumin solutions of higher salt content was rapidly obtained with the collaboration of our associates[4]. This very satisfactory product, rich in protein and poor in electrolyte, therefore, replaced the earlier standard albumin solution. The availability of a concentrated solution, low in sodium, of the plasma component most active in maintaining normal osmotic relationships and the one most frequently diminished in protein deficiency with edema provides a solution for parenteral use (Figure 5), which, with solutions of glucose, electrolytes, and amino acids, should make it possible to rectify most disturbances of fluid balance. Its usefulness not only in treatment but in the study of physiological disturbances in diseases such as nephrosis and cirrhosis of the liver is being abundantly demonstrated.

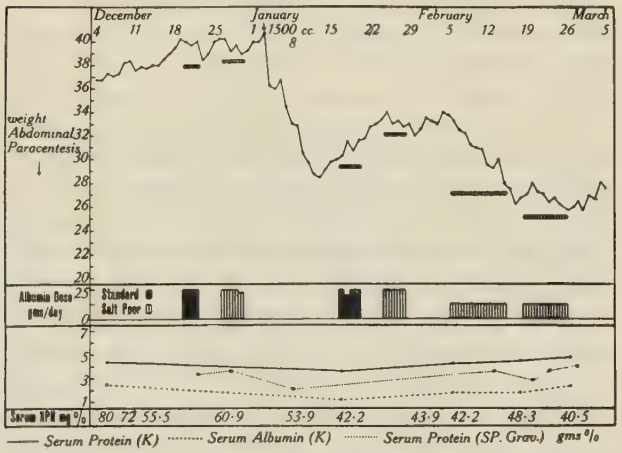


Fig. 4. Changes in body weight of a three-year-old child with nephrosis. Compare response to daily injections of salt-poor albumin (0·3 gm. of Na^+ per 100 cc.) (barred lines) with that to standard albumin (1·0 gm. of Na^+ per 100 cc.) (solid lines)[5].

[1] G. A. Ballou, P. D. Boyer, J. M. Luck, and F. G. Lum, J. Clin. Invest. *23*, 454 (1944); J. Biol. Chem. *153*, 598 (1944). – P. D. Boyer, G. A. Ballou, and J. M. Luck, J. Biol. Chem. *162*, 199 (1946) – P. D. Boyer, F. G. Lum, G. A. Ballou, J. M. Luck, and R. G. Rice, J. Biol. Chem. *162*, 181 (1946).

[2] G. Scatchard, S. T. Gibson, L. M. Woodruff, A. C. Batchelder, and A. Brown, J. Clin. Invest. *23*, 445 (1944).

[3] S. S. Gellis, J. R. Neefe, J. Stokes, Jr., G. Scatchard, L. E. Strong and C. A. Janeway, in preparation.

[4] E. A. Stead, Jr., and J. V. Warren and A. Cournand and A. Lowell, Reports to the Subcommittee on Blood Substitutes, Division of Medical Sciences, National Research Council, March 14, 1945.

[5] G. Hutchins and C. A. Janeway, Report to Subcommittee on Blood Substitutes, Division of Medical Sciences, National Research Council, March 14, 1945.

Serum γ-Globulin: Measles Antibodies. Very early in the program it was suggested that a globulin fraction might be used for the control of measles and perhaps other infectious diseases. The first of a series of sub-

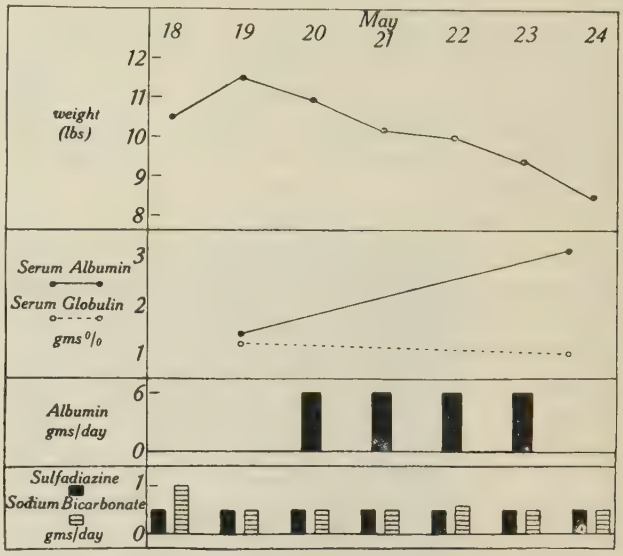


Fig. 5. Clinical course of a baby with severe hypoproteinemia, who was given concentrated human serum albumin 6·25 gm. (25 cc.) per day for four days. On May 19 the baby had severe anasarca and ascites, while on May 24 only slight edema remained about the area of infection on the forehead and scalp[1].

fractionations which yielded a highly purified, stable, concentrated preparation of the antibodies was completed in 1942. This concentrate of γ-globulins (Fraction II) contained all antibodies for which tests were made save the agglutinins against typhoid 0 antigen and the isoagglutinins found in Fraction III-1. By making a solution of Fraction II which contained 16·5 gms of γ-globulin per 100 cc., a preparation having 20–25 times the antibody titer of the original plasma has been achieved.

Table IV

Average Concentration of various Antibodies in Solutions of normal Human Serum γ-Globulins (Fraction II*)

Antibody**	Concentration referred to Plasma
Typhoid Agglutinin, H	19
Mumps, complement fixation	20
Influenza A, complement fixation .	18
Influenza A, Hirst test	10
Influenza A, mouse protection	23
Diphtheria Antitoxin	25
Streptococcus Antitoxin	22
γ-Globulin by electrophoresis	25

* Taken from[2]. ** Titrations of Enders[3].

[1] Taken from C. A. Janeway, J. A. M. A., *126*, 674 (1944).

[2] E. J. Cohn, Amer. Sci. *33*, 61 (1945).

[3] J. F. Enders, J. Clin. Invest. *23*, 510 (1944).

The Spring of 1943 was marked by severe measles epidemics in Philadelphia, Baltimore[1] and Boston[2], and as Fraction II with its concentration of γ-globulin was developed, there was ample opportunity to prove its value, in the prevention or modification of measles, when administered in the first half of the incubation period. Large amounts of γ-globulin have since been used in measles prophylaxis. Reactions have been very few, homologous serum jaundice has not occurred, and complications in modified cases of measles have been almost non-existent[3]. These tests have proved that, provided γ-globulin is administered within eight days of exposure, the results will depend on the dose. Thus an intramuscular injection of 0·1 cc./lb. has been established as the protective dose and 0·025 cc./lb. as the modifying dose. The results in children exposed at home, with an expected attack rate of 75–85 per cent, are cited in the following table:

Table V

Relation of Dose of γ-Globulin to Results
(1024 Cases: first 8 Days*)

Dose (cc./lb.)	% No Measles	% Mild Measles	% Average Measles	% Attack Rate
0·01 –0·0375	33	63·1	3·9	67
0·0375–0·075	55·2	40·6	4·2	44·8
0·075 –0·2	83·7	15·5	0·8	16·3

* Table taken from [4].

Infectious hepatitis proved to be a very serious problem during this war. No method of controlling this disease was available; hence, the importance of the finding[5,6] that it could either be prevented or modified in exposed individuals by the injection of γ-globulin. Subsequently the usefulness of γ-globulin as a means of passive protection was demonstrated during an epidemic in an institution for children[7].

Though the evidence appears to be satisfactory that γ-globulin has prophylactic value for epidemic infectious hepatitis, a more difficult problem remains in homologous serum jaundice.

[1] J. Stokes, Jr., E. P. Maris, and S. S. Gellis, J. Clin. Invest. *23*, 531 (1944).

[2] C. W. Ordman, C. G. Jennings, and C. A. Janeway, J. Clin. Invest. *23*, 541 (1944). – C. A. Janeway, Bull. New York Acad. Med. *21*, 202 (1945).

[3] C. A. Janeway, J. A. M. A. *126*, 674 (1944).

[4] C. A. Janeway, Bull. New York Read. Med. *21*, 202 (1945).

[5] J. Stokes, Jr., and J. R. Neefe, J. A. M. A. *127*, 144 (1945).

[6] Capt. S. S. Gellis, J. Stokes, Jr., Maj. G. M. Brother, Maj. W. M. Hall, Col. H. R. Gilmore, Maj. E. Beyer, and Capt. R. A. Morrissey, J. A. M. A. *128*, 1062 (1945).

[7] Maj. W. P. Havens, Jr., and J. R. Paul, J. A. M. A. *129*, 270 1945).

Table VI

Summary of Results with γ-Globulin in Prevention of Infectious Hepatitis

Study	Given Globulin			Controls		
	Number	Probable Hepatitis	Jaundice	Number	Probable Hepatitis	Jaundice
Stokes and Neefe[1], U.S.A. (Pennsylvania)	53	21%	6%	278	67%	45%
Gellis, Stokes, Brother, Hall, Gilmore, Beyer and Morrissey[2] (Mediterranean Theater of Operations)	406	—	1%	683	—	3·7%
	831	—	0·4%	8270	—	3·4%
	495	—	0·4%	1373	—	2 %
Havens and Paul[3] (Connecticut)	97	8%	2%	155	34%	23%

Mumps. The antibodies against mumps in pooled normal human plasma are concentrated in Fraction II as judged by complement-fixation[4]. Though concentrated 20-fold with respect to the plasma, the use of this concentrate in the prophylaxis or treatment of mumps proved completely ineffective.

In mumps and scarlet fever, unlike measles and poliomyelitis, in which the antibodies are reported to be elevated in convalescence only a few fold, they are elevated 10 to 30-fold. The possibility of preparing far more concentrated antibody preparations against mumps and scarlet fever therefore is far greater if convalescent or hyperimmune, rather than pooled plasma, is fractionated.

Fractionation of mumps convalescent plasma yielded γ-globulin 200 to 300 times as concentrated in the mumps complement-fixing antibodies as normal plasma. Though its prophylactic value has not been proved, its effect in lowering the incidence of orchitis when administered on the first day of disease indicated that it contained adequate amounts of antibody[5].

Other diseases. Trial of γ-globulin in other diseases to which adults are imune has revealed a number in which it appears to be ineffective (see Table VII). These

[1] J. Stokes, Jr., and J. R. Neefe, J. A. M. A. *127*, 144 (1945).

[2] Capt. S. S. Gellis, J. Stokes, Jr., Maj. G. M. Brother, Maj. W. M. Hall, Col. H. R. Gilmore, Maj. E. Beyer, and Capt. R. A. Morrissey, J. A. M. A. *128*, 1062 (1945).

[3] Maj. W. P. Havens, Jr., and J. R. Paul, J. A. M. A. *129*, 270 (1945).

[4] J. F. Enders, J. Clin. Invest. *23*, 510 (1944).

[5] S. S. Gellis, A. C. McGuinness, and M. Peters, Amer. J. Med. Sci. *210*, 661 (1945).

include prevention of chicken pox and infantile diarrhea[1]. Routine administration of globulin to alternate premature babies in a large hospital nursery failed to lower mortality or morbidity in comparison with the controls[2]. On the other hand favorable results have been reported when serum albumin was so administered[3].

Table VII

Summary of Results with Normal Serum γ-Globulin in Common Diseases

Disease	Immunity in Early Infancy	Value of Globulin	
		Prevention	Treatment
Measles	+	-	±
Infectious Hepatitis	−	+	0
Mumps	+	0	0
Scarlet Fever	+	S	S
Poliomyelitis	+	−	0
German Measles	+	S	−
Chicken Pox	0	0	−
Infantile Diarrhea	0	0	0
Homologous Serum Jaundice	−	S	−

Key: + Effective ± Questionable 0 Ineffective
− Not known S Under Study.

Blood Typing Globulins: Isoagglutinins. The anti-A and anti-B isoagglutinins of the plasma were concentrated in Fraction III-1. Plasma from donors of the desired groups was fractionated and the isoagglutinins, concentrated in this fraction, proved quite satisfactory, highly concentrated, typing globulins[4].

Presently it was found, however, that random pools of group 0 plasma yield a better source of anti-A agglutinin than group B plasma, and that the anti-B activity of group 0 plasma could be removed by mixing group 0 and group B blood. Since 0 donors are encountered much more frequently than B donors, this method also makes far greater amounts of blood grouping globulins available[5].

Anti-Rh antibodies. Besides the naturally occurring isoagglutinins, other isoagglutinins may on some occasions arise through the immunization of human subjects. These antibodies include the isoimmune anti-A and anti-B agglutinins, produced in response to injection, and the class known as the anti-Rh antibodies, sometimes produced after injection, or sometimes arising during pregnancy, and directed against the "Rh factors", which are present in most human red cells, independent of the A and B factors. The concentration and processing of anti-Rh reagents was particularly necessary because of the increasing importance of Rh typing in the prevention of obstetrical accidents as well as hemolytic transfusion reactions.

The method of concentrating the anti-Rh antibodies in Fraction III-1 was in most respects similar to that used for the anti-A and anti-B isoagglutinins[1]. However, there were additional difficulties resulting from the specificities of the serums, the greater chemical and physical instability of the anti-Rh agglutinins, the neutralization of the naturally-occurring anti-A and anti-B isoagglutinins, and finally the production of a stable, bacteria-free, specific anti-Rh reagent. These difficulties were overcome by serum albumin as a diluent[2], and it is now possible to produce useful anti-Rh reagents in larger quantity and of much better quality than were heretofore available.

Substances concerned in Blood Clotting. The great potential value for clinical use, in many conditions, of prothrombin[3], thrombin[4], fibrinogen and other components of the clotting mechanism was recognized at the very beginning of our fractionation of human plasma[5].

Fibrinogen, present in human plasma at a concentration of approximately 2·5 gms/l, clots readily and is much more susceptible to denaturation than most blood proteins. Most of the fibrinogen of plasma was concentrated in Fraction I which was preserved in the dried state and readily dissolved on addition of water to form stable solutions. Fibrinogen can readily be further purified, preparations having been obtained in which over 98 per cent of the protein was clottable. The degree of purification and the concentration at which it is dissolved and made available may thus be determined by the uses to which it is to be put.

Prothrombin and Thrombin. Prothrombin is far more difficult to separate in pure form. It is present in but small amount[6]. Its activity rapidly declined in the presence of whole fresh plasma and of certain plasma fractions. Antithrombic activity appeared to be concentrated most strongly in the lipoprotein in Fractions III-0 and IV-1. Fraction III-2, though largely β-glob-

[1] R. H. High, N. A. Anderson, and W. E. Nelson, in preparation.

[2] L. K. Sweet, M. J. Howell, L. G. McMurray, Lt. W. A. McMain, Jr., and Lt. G. J. Antell, in preparation.

[3] L. K. Sweet, personal communication.

[4] L. Pillemer, J. L. Oncley, M. Melin, J. Elliott, and M. C. Hutchinson, J. Clin. Invest. *23*, 550 (1944). – E. L. DeGowin, J. Clin. Invest. *23*, 554 (1944).

[5] M. Melin, J. Clin. Invest. *24*, 662 (1945).

[1] J. L. Oncley, M. Melin, J. W. Cameron, D. A. Richert, and L. K. Diamond, Ann. N. Y. Acad. Sci. *46*, 899 (1946).

[2] James W. Cameron and Louis K. Diamond, J. Clin. Invest. *24*, 793 (1945). – L. K. Diamond and R. L. Denton, J. Lab. and Clin. Med. *30*, 821 (1945).

[3] J. Mellanby, Proc. Roy. Soc. London, s. B *107*, 271 (1930). – W. H. Seegers, H. P. Smith, E. D. Warner, and K. M. Brinkhous, J. Biol. Chem. *123*, 751 (1938).

[4] W. H. Seegers and D. A. McGinty, J. Biol. Chem. *146*, 511 (1942).

[5] J. T. Edsall, R. M. Ferry, and S. H. Armstrong, Jr., J. Clin. Invest. *23*, 557 (1944).

[6] Estimated to be 0·2 gm/l in beef blood[7].

[7] W. H. Seegers, E. C. Loomis, and J. M. Vandenbelt, Arch. Biochem. *6*, 85 (1945).

ulin[1], was relatively free of β-lipoproteins, and rich in prothrombin. This prothrombin was promptly converted to thrombin by the addition of calcium ion and tissue thromboplastin. It was considered of importance that no protein of non-human origin be introduced into our preparations. As a human thromboplastin, the tissue globulin from placental extract was found to be highly satisfactory[2]. Thrombin so prepared could be further subfractionated, or could be filtered and dried directly from the frozen state, to yield a human thrombin preparation of adequate potency and purity for clinical purposes. Although such preparations lost most of their thrombic activity within two or three days in the dissolved state at room temperature, they have remained essentially unchanged in the dry state even after heating at 50° C for two years.

Structure of the Fibrin Clot. Conditions controlling the mechanical and chemical properties of fibrin clots have been determined. These properties are profoundly modified by variations in p_H, ionic strength, temperature, thrombin and fibrinogen concentration[3]. One extreme type of clot formed at neutral or slightly alkaline p_H was transparent, gelatinous, friable, and crumbly, with very low tensile strength and elongation. Another type of clot formed near p_H 6·3 was opaque, doughy, non-friable, and synerized easily with extrusion of water and enormous decrease of volume; yielding a clot of high tensile strength.

Both types of clot consist of networks of fibers. In the clear clot the fibers consist of individual chain molecules, whereas in the opaque type they are bundles of molecules aggregated side by side. These studies of the properties of fibrin clots determined the optimum conditions for preparing fibrin film[4].

Fibrin Film as a Dural Substitute. Fibrin film has been successfully used to replace dura which had been removed, whether or not the underlying tissue had suffered injury[5]. Adhesions between the dura and the underlying tissue were not observed. The film slowly disappeared in the course of several months and was replaced by a neomembrane of fibrous tissue. "Fibrin film has proved more satisfactory than any other material tested as a dural substitute. In addition to its safety, fibrin film is well adapted for use in the repair of dural defects because of its translucence, flexibility, ease of handling, and adaptability to any contour". (See p. 684 in reference [6].)

[1] E. J. Cohn, J. L. Oncley, L. E. Strong, W. L. Hughes, Jr., and S. H. Armstrong, Jr., J. Clin. Invest. *23*, 417 (1944).

[2] R. C. Eley, A. A. Green, and C. F. McKhann, J. Pediat. *8*, 135 (1936).

[3] J. D. Ferry and P. R. Morrison, J. Clin. Invest. *23*, 566 (1944); J. Amer. Chem. Soc. *69*, 388 (1947).

[4] J. D. Ferry and P. R. Morrison, J. Amer. Chem. Soc., *69*, 400 (1947). – J. D. Ferry, M. Singer, P. R. Morrison, J. D. Porsche, and R. L. Kutz, J. Amer. Chem. Soc., *69*, 409 (1947).

[5] O. T. Bailey and F. D. Ingraham, J. Clin. Invest. *23*, 597 (1944).

[6] F. D. Ingraham and O. T. Bailey, J. A. M. A. *126*, 680 (1944).

Fibrin Foam and Thrombin in Hemostasis. When active and sterile preparations of human thrombin became available in February, 1942, clinical studies demonstrated that it was inadequate for the control of bleeding from larger vessels, since the clot formed by the thrombin was rapidly swept away by the further flow of blood.

The use of oxidized cellulose, as a solid matrix in conjunction with thrombin for the control of bleeding, was reported in 1943[1]. The possibility of making a similar solid matrix from one of the constituents of human plasma occurred to us. This would have the advantage that the product would not be in any sense a foreign body, but actually a protein of human origin[2]. Harvey Cushing over 30 years ago suggested the use of fibrin for hemostasis, and preliminary experiments were made in this direction during the first world war. Cushing was, of course, responsible for the wide-spread use of small pieces of muscle as hemostatic agents, which proved by far the most effective general technique for hemostasis in neurosurgery up to the beginning of 1943.

The use of fibrin foam and thrombin produced prompt and effective hemostasis in many conditions. "Its most obvious sphere of usefulness is that of the control of oozing from small vessels. The use of foam has materially shortened many neurosurgical operations because the bleeding from the dura, from beneath the edges of the bone flap, and from the spinal veins can be quickly brought under control. More important, however, is the fact that fibrin foam adequately controls the oozing from the beds of tumors."

"Another field in which the fibrin foams have proved of great value is in the control of bleeding from large venous channels. When there is oozing from large superficial cerebral veins, ... such oozing may be controlled by the use of foam. It is also possible to stop bleeding from ... dural sinuses. ... In dealing with blood vessel malformations of the cerebrum, ... fibrin foam is not merely an agent to shorten neurosurgical procedures, but has succeeded where other agents have failed. Fibrin foam can hardly be expected to control bleeding from large arteries[3]."

Further studies indicated that fibrin foam and thrombin might be of use in general surgery[4]. It has been reported of value in controlling hemorrhage from the cut surface of the liver and kidney, in prostatectomies[5], gynecological and thoracic operations, tooth extractions[6], thyroidectomies, and in stopping the bleeding in hemophilia.

[1] T. J. Putnam, Ann. Surg. *118*, 127 (1943). – V. K. Frantz, Ann. Surg. *118*, 116 (1943).

[2] O. T. Bailey and F. D. Ingraham, J. Clin. Invest. *23*, 597 (1944).

[3] F. D. Ingraham, O. T. Bailey, and F. E. Nulsen, J. Neurosurg. *1*, 171 (1944).

[4] O. T. Bailey, F. D. Ingraham, O. Swenson, J. J. Lowrey, and E. A. Bering, Jr., Surgery *18*, 347 (1945).

[5] W. C. Quinby and E. K. Landsteiner, N. E. J. M. *233*, 267 (1945).

[6] P. K. Losch, J. Oral Surg. *3*, 177 (1945).

Fraction I in the Treatment of Hemophilia. Several years before the war, injection of a euglobulin fraction of normal plasma had been shown to be effective in shortening the clotting time of hemophilic blood[1]. This component has been found in high concentration in Fraction I. The usual dose found effective was approximately 200 mg. of protein, most of which, of course, was fibrinogen which had been demonstrated not to be the active component in this condition.

In most hemophilic patients, the injection of 200 to 400 mg. of Fraction I from an active preparation caused the clotting time to drop nearly to normal within the first half hour and to remain lowered for a period of 4 to 6 hours or more. The clotting time rose again slowly but reinjection caused it to fall once more[2]. The results have been most striking in children.

Several hemophilic patients who required tooth extractions received injections shortly before this operation, which was then carried out without excessive bleeding. Where oozing was noted after the extraction, and it was found that the clotting time had increased, reinjection of Fraction I immediately lowered the clotting time and stopped the oozing.

In several cases where the patient was suffering from internal hemorrhage, a marked arrest of bleeding was reported as a result of the injection of Fraction I and a reduction in clotting time from the usual hemophilic level of over half an hour to a much more nearly normal level.

In addition to these favorable results, however, there have been several cases of well-established hemophilia in which the results of injection of Fraction I were negative, even when the material used had been active in other patients. Also, in some patients who had previously responded either to transfusion of blood or to the injection of Fraction I, there were periods during which the clinical response was unsatisfactory to intravenous injection of blood or the Fraction. Variability in response from patient to patient and in the same patient from time to time suggested that conditions diagnosed as hemophilia may not always be due to deficiency of the same chemical component.

Fraction I, like most of the other fractions and subfractions that have been developed, must still be considered to consist of a number of components, one of which has a very high temperature coefficient of solubility, whereas the antihemophilic globulin has a far higher thermal stability than the fibrinogen. The chemical separation of the diverse components of this fraction, however, remains to be accomplished.

[1] A. J. Patek, Jr., and F. H. L. Taylor, J. Clin. Invest. *16*, 113 (1937). – E. L. Lozner and F. H. L. Taylor, J. Clin. Invest. *18*, 821 (1939).

[2] F. H. L. Taylor, C. S. Davidson, H. J. Tagnon, M. A. Adams, A. H. MacDonald, and G. R. Minot, J. Clin. Invest. *24*, 698 (1945). – G. R. Minot, C. S. Davidson, J. H. Lewis, H. J. Tagnon, and F. H. L. Taylor, J. Clin. Invest. *24*, 704 (1945). – L. K. Diamond, Amer. J. Med., in press.

Zusammenfassung

Die chemischen Methoden, die wir für die Trennung, Konzentrierung und Reinigung von Proteinen, Glykoproteiden und Lipoproteiden irgendeines biologischen Systems durch Fraktionierung in Alkohol–Wasser-Mischungen bei jeweils festgelegten p_H, Salz- und Eiweißkonzentrationen und bei Temperaturen unterhalb des Gefrierpunkts, die für die Verhinderung der Denaturierung notwendig sind, entwickelt hatten, führten bis jetzt zur Entdeckung und Konzentrierung von über 25 verschiedenen Eiweißkomponenten des menschlichen Plasmas. Zu diesen gehören mehrere voneinander verschiedene Albumine; Immunglobuline, welche sich in ihren physikalischen Eigenschaften und durch ihre Wechselwirkung mit Antigenen unterscheiden; Lipoproteide, welche sich durch ihre physikalischen Eigenschaften und durch ihre Wechselwirkung mit Steroiden unterscheiden; Enzyme mit Protease-, Peptidase-, Lipase-, Phosphatase und Esterasewirkung; Thrombin, Fibrinogen und das antihämophile Globulin, das an der Blutgerinnung beteiligt ist; Glykoproteide, Iodoproteide und das metallbindende Protein, welches sowohl mit Eisen als auch mit Kupfer reagiert und wahrscheinlich Transportfunktionen im Plasma auszuüben hat.

Die Zahl dieser Plasmaproteine ist viel größer als die, die durch die Elektrophorese oder durch die Ultrazentrifuge entdeckt werden können. Die chemische Fraktionierung ergab mindestens vier β_1-Globuline und mindestens zwei α_1- und zwei α_2-Globuline. Zu den α_2-Globulinen gehören mindestens zwei Arten von Glykoproteiden, zu den α_1-Globulinen das Globulin der Fraktion V-1, welches Bilirubin enthält, und das Lipoproteid in Fraktion IV-1. Zu den β_1-Globulinen gehört sowohl das carotinreiche Euglobulin, welches mit der dreifachen Menge seines eigenen Gewichts sich mit Lipoiden verbinden kann, als auch ein hochmolekulares, lipoidfreies β_1-Globulin. Diese beiden Globuline werden in der Fraktion III-0 angereichert. Auch die Fraktion III enthält β_1-Globuline mit verschiedenen molekularen Eigenschaften. Eine andere Fraktion, IV-7, welche die eisenbindende Komponente des Plasmas enthält, besteht hauptsächlich aus einem lipoidfreien β_1-Globulin und steht den Albuminen hinsichtlich seines osmotischen Verhaltens näher als irgendein anderes Globulin. Diese β_1-Globuline haben außer der Eigenschaft, elektrophoretisch nicht unterscheidbar zu sein, keine andere gemeinsam. Die lipoidbindende Plasmakomponente ist ein β_1-Euglobulin, die eisenbindende β_1-Komponente ein Pseudoglobulin. Sie unterscheiden sich durch ihre Größe, Form, Löslichkeit, chemische Zusammensetzung und Reaktionsfähigkeit und durch ihre physiologische Funktion.

Ausgehend von der Annahme, die vorderhand tatsächlich nur eine Annahme ist, daß jeder Bestandteil des menschlichen Blutes eine wichtige physiologische Funktion ausübt, und daß die Menge irgendeiner Plasmakomponente, die für die Ersatztherapie verwendet wird, so groß zu bemessen ist, daß es zu einer Wiederherstellung und nicht zu einer Störung der Konzentrationen der verschiedenen physiologisch wichtigen Plasmakomponenten kommt, versuchten wir so viele als möglich der einzelnen Eiweißkomponenten zu trennen und zu konzentrieren, um sie als spezifische, bei manchen Krankheitszuständen sich als wertvoll erweisende therapeutische Agenzien der menschlichen Gesellschaft, die das Blut zur Verfügung stellte, zum Zwecke einer möglichst wirkungsvollen und ökonomischen Verwendung zurückzugeben.

Die Biochemie der Chinone

Von Otto Hoffmann-Ostenhof, Wien[1]

Die Gruppe der Chinone nimmt in der organischen Chemie eine betonte Ausnahmestellung ein. Die Formulierung der chinoiden Struktur war lange Zeit eine Streitfrage der Theoretiker; die Frage, ob es sich um Peroxyde oder Diketone handle, wurde schließlich im letzteren Sinne entschieden, doch stellt auch heute noch – insbesondere nach der Mesomerielehre – der chinoide Zustand ein interessantes und noch nicht völlig gelöstes Problem dar. Obwohl die Chinone ihrer Konstitution gemäß zu den alizyklischen Verbindungen gehören, werden sie gewöhnlich in den Lehrbüchern der organischen Chemie aus didaktischen Gründen im Anschluß an diejenigen aromatischen Verbindungen behandelt, von denen sie sich ableiten lassen. Dies ist um so verständlicher, als sich die Chinone durch einfache Reduktion in die entsprechenden Hydrochinone überführen lassen, welche zur aromatischen Reihe gehören. Je nach dem Ringsystem, von dem sich ein Chinon ableiten läßt, sprechen wir von Benzochinonen, Naphthochinonen, Anthrachinonen, Phenanthrenchinonen usw.

Durch ihre Reaktionsfähigkeit bilden die Chinone Zwischenprodukte bei der Synthese vieler organischer Verbindungen und sind deshalb präparativ eine der bestbearbeiteten Gruppen der organischen Chemie. Aber auch die physikalische Chemie hat sich ausführlich mit den Chinonen beschäftigt. Das System Chinon–Hydrochinon stellt seit Haber und Russ (1901) das klassische Objekt zum Studium der Oxydations–Reduktions-Potentiale dar (vgl. auch die Chinhydronelektrode!); insbesondere die von Dimroth[2] durchgeführten Versuche zur Messung der Affinität von Redoxsystemen bieten in theoretischer Hinsicht größtes Interesse.

Chinone verschiedenster Konstitution wurden in Tieren, Pflanzen und Mikroorganismen als Pigmente, Stoffwechselprodukte und auch als Wirkstoffe vorgefunden. Auch vom biochemischen, physiologischen und pharmakologischen Standpunkt aus erregen die Chinone durch verschiedene, oft bedeutende Wirksamkeit großes Interesse. Gerade in letzter Zeit sind etliche Naturstoffe, die vielfach auch in therapeutischer Hinsicht Bedeutung haben, als Chinone erkannt worden; anderseits wurde eine Anzahl neuer Wirkungen bereits bekannter Chinone von verschiedenen Autoren beschrieben.

Das vorliegende Referat will eine Übersicht über die als Chinone identifizierten Naturstoffe und deren Bedeutung sowie über die biochemischen und pharmakologischen Wirkungen der verschiedenen Chinone geben, wobei natürlich den neueren Forschungsergebnissen der Vorrang eingeräumt werden soll. Viele der behandelten Probleme sind noch in Schwebe und endgültige Lösungen liegen nur selten vor; gerade deshalb dürfte aber eine Zusammenfassung der auf diesem Gebiet erreichten Ergebnisse den interessierten Forschern – organischen Chemikern, Biochemikern, Biologen und Pharmakologen – Anregungen bieten.

I.

Naturstoffe mit Chinonstruktur

Wir finden Substanzen mit chinoider Struktur in der Natur in großer Anzahl, im Tierreich wie im Pflanzenreich und auch bei Mikroorganismen. Die Funktion der wenigsten ist voll aufgeklärt; eine Ordnung nach der Bedeutung der Chinone für die Organismen ist daher noch nicht möglich. In der folgenden kurzen, teilweise tabellarischen Übersicht werden deshalb die chinoiden Naturstoffe nach ihrer chemischen Konstitution geordnet.

Derivate der Benzochinone

a) Die bis jetzt als Derivate des *p-Benzochinons* erkannten Naturstoffe werden in Tabelle I verzeichnet.

Über die physiologische Bedeutung der meisten in der Tabelle angeführten Substanzen für die Organismen, von denen sie erzeugt werden, ist kaum etwas bekannt. Bei den Stoffen, die antibakterielle Wirkungen zeigen, ist anzunehmen, daß ihre Funktion darin besteht, ihre Produzenten, die Schimmelpilzkulturen, vor dem Überwuchern durch schädliche Mikroorganismen zu schützen.

Auch über die Bildung der Chinone durch die Organismen besitzen wir nur lückenhafte Kenntnisse. Raistrick und Mitarbeiter haben die zur Chinonbildung befähigten Schimmelpilze auf Nährlösung nach Czapek-Dox, die Glukose als einzige Kohlenstoffquelle enthält, gezüchtet und die Chinone aus der Kulturflüssigkeit erhalten. Die Lebewesen sind also imstande, die Chinone auf noch völlig ungeklärten Wegen aus Zuckern zu erzeugen. Vielleicht gibt die Beobachtung von Kluyver und Mitarbeitern, daß das Bakterium *Pseudomonas Beijerincki* bei Zusatz von Inosit zu einem synthetischen Kulturmedium Tetraoxy-*p*-benzochinon produziert, uns einen Hinweis über die Art der Chinonbildung.

b) Derivate des *o-Benzochinons* sind ebenfalls als Naturstoffe erkannt worden.

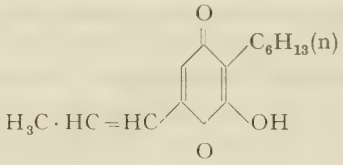
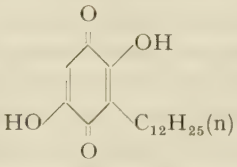
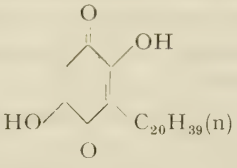
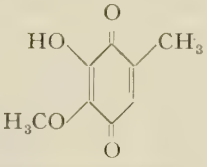
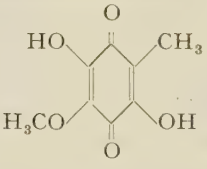
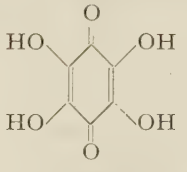
Mazza und Stolfi[1] isolierten aus dem Polychäten *Halla parthenopea* ein rotes Pigment, das Hallachrom,

[1] Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

[2] O. Dimroth, Z. angew. Chem. *46*, 571 (1933).

[1] F. P. Mazza und G. Stolfi, Arch. Scienze biol. *16*, 183 (1931).

Tabelle I

Substanz	Konstitution	Vorkommen	Wirkungen
p-Benzochinon		Als Ausscheidungsprodukt des Bodenbakteriums *Streptothrix chromogena*[1] sowie im Hautsekret des Myriapoden *Julus terrestris*[2].	Beförderung der Humusbildung ?[1]
Perezon	 (fraglich)	In der mexikanischen Droge *Radix Perziae* (*Trixis pipizahuac*).	purgierende Wirkung
Embelin[3] (Embelsäure)		Aus den getrockneten Beeren der indischen Strauchpflanze *Embelia ribes*.	Antihelminthikum
Mäsochinon[4]		Aus den Früchten von *Maesa japonica* (*Myrsinacaeae*).	
Fumigatin[5]		Aus der Kulturflüssigkeit von *Aspergillus fumigatus* und anderen *Aspergillus*arten.	antibakteriell wirksam[6]
Spinulosin[7]		Aus der Kulturflüssigkeit von *Penicillium spinulosum* Thom und einer Abart von *Aspergillus fumigatus*.	schwach antibakteriell wirksam[6]
Citrinin[8]	noch nicht völlig geklärt[9].	Aus der Kulturflüssigkeit von *Penicillium citrinum* sowie anderen *Penicillium*- und *Aspergillus*arten.	antibakteriell wirksam[6]
Tetraoxy-*p*-benzochinon		Aus *Pseudomonas Beijerincki* bei Zusatz von Inosit zu einem synthetischen Nährmedium[10].	

[1] M. W. BEIJERINCK, Zbl. Bacter. Parasitenkunde *6*, II., 1 (1899); vgl. auch T. FURUTA, Bull. Coll. Agric. Tokyo *4*, 407 (1901).

[2] M. BEHAL und P. HISALIX, C. r. Acad. Sci. *131*, 1004 (1900).

[3] K. H. HASAN und E. STEDMAN, J. chem. Soc. (London), 1931, 2112.

[4] M. HIRAMOTO, Proc. imp. Acad. (Tokyo) *15*, 220 (1939).

[5] W. K. ANSLOW und H. RAISTRICK, Bioch. J. *32*, 487 (1938); Synthese: W. BAKER und H. RAISTRICK, J. chem. Soc. (London) 670 (1941).

[6] A. E. OXFORD, Chem. Industry *61*, 48 (1942); *61*, 189 (1942).

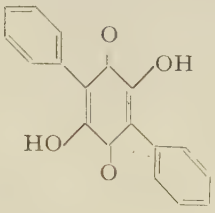
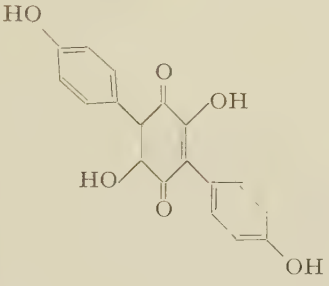
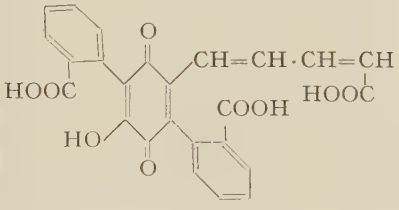
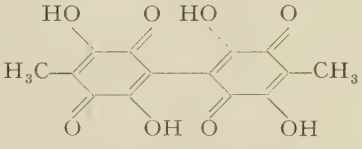
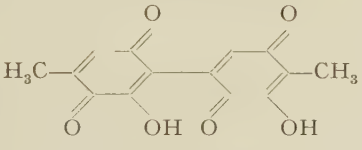
[7] H. RAISTRICK und J. H. BIRKINSHAW, Phil. Trans. roy. Soc. London, Ser. B *220*, 245 (1931); Synthese: W. K. ANSLOW und H. RAISTRICK, Bioch. J. *32*, 803 (1938).

[8] A. C. HETHERINGTON und H. RAISTRICK, Phil. Trans. roy. Soc. London, Ser. B, *220*, 269 (1931).

[9] F. P. COYNE, H. RAISTRICK und R. ROBINSON, Phil. Trans. roy. Soc. London, Ser. B, *220*, 297 (1931); vgl. dazu aber auch: T. S. GORE, T. B. PANSE und K. VENKATARAMAN, Nature *157*, 333 (1946).

[10] A. J. KLUYVER, T. HOF und A. G. BOEZAARDT, Enzymologia *7*, 257 (1939).

Tabelle I (Fortsetzung)

Substanz	Konstitution	Vorkommen	Wirkungen
Polyporsäure[1]		Farbstoff eines Pilzes der Art *Polyporus*.	
Atromentin[2]		Farbstoff des Pilzes *Paxillus atromentosus*.	
Muscaruffin[3]		Farbstoff des Fliegenpilzes.	
Oosporein[4]		Aus *Oospora colorans* van Beyma.	
Phönicin[5]		Aus *Penicillium phoeniceum*[6].	

das als 5,6-Chinon der Dihydroindol-2-carbonsäure erkannt wurde. FRIEDHEIM[7] hat diese Substanz näher untersucht, ihr Oxydations–Reduktions-Potential gemessen, und vermutet auf Grund der Tatsache, daß Hallachrom imstande ist, die Atmung von Erythrozyten, Seeigel- und Askariseiern *in vitro* um ein Vielfaches zu steigern, daß dieses Pigment eine aktivierende Rolle im Sauerstoffhaushalt des Borstenwurms ausübt. Nach Auffassung des Autors dürfte dem Hallachrom die Rolle eines Sauerstoffspeichers zukommen, der es möglich macht, daß *Halla* sich längere Zeit im sauerstoffarmen Schlamm des Meeresgrundes aufhalten kann. Dieselbe Substanz entsteht als Zwischenprodukt der durch Tyrosinase verursachten Melaninbildung aus Tyrosin[1] sowie auch bei der Oxydation von Dioxyphenylalanin (Dopa) mit *p*-Benzochinon. FRIEDHEIM[2] nimmt an, daß der Stoff gemeinsam mit seinem Leukoprodukt ein die Zellatmung katalysierendes Redoxsystem darstellt.

Dem Hallachrom nahe verwandt ist das Adrenochrom, dessen Bildung aus dem Adrenalin durch Oxy-

[1] F. KÖGL, Liebigs Ann. Chem. *447*, 78 (1925).

[2] F. KÖGL und J. J. POSTOWSKY, *ib.* *440*, 19 (1924); *445*, 159 (1925). – F. KÖGL und H. BECKER, *ib.* *465*, 211 (1928). – F. KÖGL, *ib.* *465*, 243 (1928).

[3] F. KÖGL und H. ERXLEBEN, Liebigs Ann. Chem. *479*, 11 (1930).

[4] F. KÖGL und G. C. VAN WESSEM, Rec. Trav. chim. Pays-Bas *63*, 5 (1944).

[5] T. POSTERNAK, Helv. chim. acta *21*, 1326 (1938).

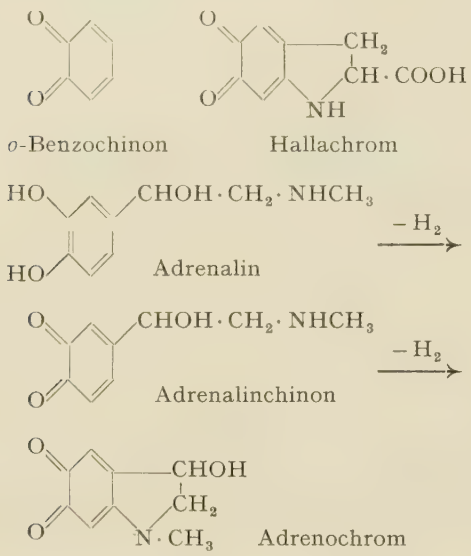
[6] E. A. H. FRIEDHEIM, *ib.* *21*, 1464 (1938).

[7] E. A. FRIEDHEIM, Bioch. Z. *259*, 257 (1933).

[1] Vgl. hiezu zum Beispiel H. S. RAPER, J. chem. Soc. (London) 125 (1938).

[2] E. A. H. FRIEDHEIM, Naturwiss. *21*, 177 (1933).

dation über das Adrenalinchinon, wie oben gezeigt, vor sich geht[1]. Neuerdings wird angenommen, daß die Stoffwechselwirkungen (Steigerung des Grundumsatzes), die man früher dem Adrenalin selbst zugeschrieben hat, durch Adrenochrom verursacht werden.



Es handelt sich hier nicht um eine Wirkung, die auf zentral-nervösem Wege zustande kommt, sondern um eine Oxydationssteigerung im Gewebe, die sich an überlebenden Gewebskulturen nachweisen läßt. Vermutlich fungiert dabei das Adrenochrom als Wasserstoffakzeptor, während sein Dihydroprodukt die Rolle eines Wasserstoffdonators übernimmt.

Derivate der Naphthochinone

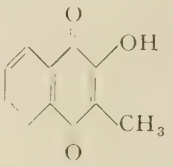
Auch von den Derivaten des *α-Naphthochinons* sind eine verhältnismäßig große Anzahl in der Natur vorgefunden worden. Zu dieser Gruppe gehören vor allem die Vitamine K und biologisch wichtige Farbstoffe verschiedener Echinodermen, die Echinochrome und ihre Verwandten. Diese Stoffe werden in eigenen Abschnitten behandelt.

In Tabelle II sind die Pflanzenfarbstoffe verzeichnet, welche als Derivate des Naphthochinon-(1,4) erkannt wurden.

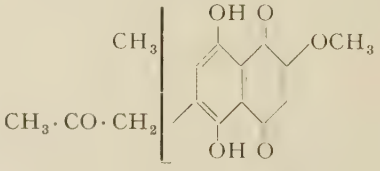
Über die Bildung der genannten Farbstoffe durch die Pflanzen ist bisher noch nichts bekannt geworden. Auch über die Funktion dieser Stoffe wurde noch kaum gearbeitet. Friedheim[2] stellte seinerzeit fest, daß Lawson und Juglon imstande sind, die Atmung von Erythrozyten zu steigern und vermutet auf Grund dieses und ähnlicher Befunde, daß die genannten Naphthochinonderivate (und möglicherweise auch andere Chinone) die Rolle akzessorischer Atmungskatalysatoren spielen.

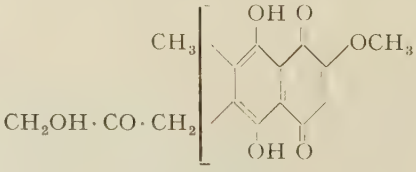
[1] D. E. Green und D. Richter, Bioch. J. *31*, 596 (1937).
[2] E. A. H. Friedheim, Bioch. J. *28*, 180 (1934).

Anderson und Newman[1] konnten aus menschlichen Tuberkelbazillen ein Pigment isolieren, dem sie den Namen Phthiocol gaben und das sie als 2-Methyl-3-oxy-naphthochinon-(1,4) aufklärten. Es erscheint aber möglich, daß diese Substanz nicht ursprünglich in den Bakterien vorkommt, sondern ein bei der Aufarbeitung aus Vitamin K entstandenes Kunstprodukt darstellt.



In jüngster Zeit wurden von Arnstein, Cook und Lacey[2] zwei Naphthazarinderivate aus dem Schimmelpilz *Fusarium javanicum* isoliert, die wegen ihrer antibiotischen Wirkung gegenüber Tuberkelbazillen größtes Interesse erwecken. Die beiden Substanzen, die von ihren Entdeckern Javanicin und Oxyjavanicin genannt wurden, sind in ihrer Struktur noch nicht völlig aufgeklärt. Es scheint sich aber um verhältnismäßig einfache Stoffe zu handeln, die vielleicht auch synthetisch zugänglich sein werden. Es ist zu hoffen, daß die klinischen Prüfungen die Erwartungen, die man in diese Substanzen auf Grund ihrer Wirkung *in vitro* gesetzt hat, erfüllen werden.

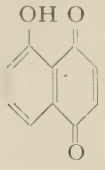
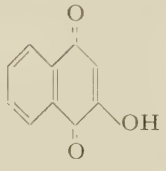
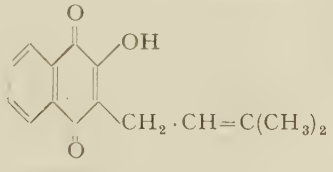
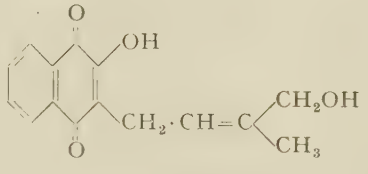
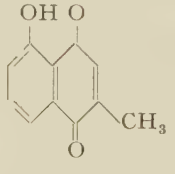
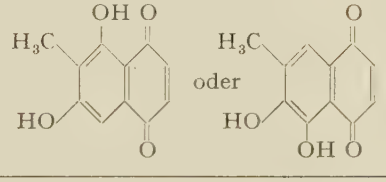
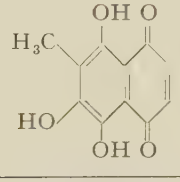
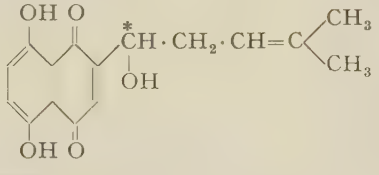




Von Derivaten des Naphthochinon-(1,2), des Orthoisomeren des Naphthochinon-(1,4), ist bisher nur eines in der Natur aufgefunden worden. Price und Robinson[3] isolierten aus der australischen Pflanze *Streptocarpus Dunnii* Mast. ein orangerotes Pigment, das sie Dunnion nannten und dem sie auf Grund seiner Eigenschaften, Umsetzungen und Oxydationsprodukt-

[1] R. J. Anderson und M. S. Newman, J. biol. Chem. *101*, 773 (1933); *ib.* *103*, 197 (1933).
[2] H. R. V. Arnstein, A. H. Cook und M. S. Lacey, Nature *157*, 333 (1946).
[3] J. R. Price und R. Robinson, Nature *142*, 147 (1938).

Tabelle II

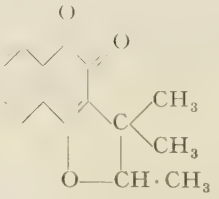
Substanz	Konstitution	Vorkommen
Juglon		In den Walnußschalen und in anderen grünen Teilen des Walnußbaums sowie auch in anderen Juglandaceen.
Lawson		Farbstoff der Hennablätter (*Lawsonia alba* Lam.).
Lapachol		Färbendes Prinzip des Lapachoholzes und anderer tropischer Holzarten.
Lomatiol		In den Samen von *Lomatia*arten.
Plumbagin[1]		Isoliert aus der Wurzelrinde von *Plumbago*arten (in der indischen Volksheilkunde verwendet).
Droseron[2]		In der australischen Pflanze *Drosera Wittackeri*.
Oxydroseron[2]		
Alkannin[3]		Farbstoff aus der Wurzel von *Alcana tinctoria*.
Shikonin[3]	Spiegelbildisomeres des Alkannins.	Farbstoff aus den *Shikonwurzeln*.

[1] A. C. ROX und S. DUTT, J. Ind. chem. Soc. *5*, 419 (1928). – A. MADINAREITIA und J. S. DE BURUAGA, J. Amer. chem. Soc. *51*, 3363 (1929). – J. S. DE BURUAGA, An. Soc. Españ. Física Quím. *31*, 185 (1933).

[2] A. K. MACBETH, J. R. PRICE und F. L. WINZOR, J. chem. Soc. (London) 325 (1935). – A. K. MACBETH und F. L. WINZOR, *ib.* 334 (1935). – F. L. WINZOR, *ib.* 336 (1935).

[3] H. BROCKMANN und H. ROTH, Naturwiss. *23*, 246 (1935).

ten die Konstitution eines 2,3,3-Trimethyl-6,7-benzocumaran-4,5-chinons zuschreiben.



Dunnion

Derivate des Anthrachinons und höher kondensierter Systeme

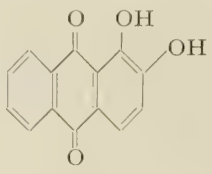
Unter den Anthrachinonderivaten, die in der Natur vorkommen, finden wir eine Anzahl hochgeschätzter Farbstoffe, weiters sind Anthrachinonderivate in verschiedenen Pflanzendrogen und auch in höheren und niedrigeren Pilzen vorgefunden worden.

Der bekannteste natürliche Anthrachinonfarbstoff, das Alizarin, kommt in der Krappwurzel, *Rubia tinctoria*, und anderen *Rubia*arten vor. Es hat die Konstitution eines 1,2-Dioxy-anthrachinons. In der Pflanze liegt es als Glukosid vor; die Hydroxylgruppe in der β-Stellung ist durch das Disaccharid Primverosae (6-[β-*d*-Xylosido]-*d*-glukose) verschlossen. Schon 1868 gelang es GRÄBE und LIEBERMANN, die Konstitution des Alizarins aufzuklären und kurz darauf war der Farbstoff auch synthetisch zugänglich. Das künstliche Produkt hat durch seine Billigkeit den natürlichen Farbstoff völlig verdrängt. Neben dem Alizarin finden sich in *Rubia tinctoria* auch noch andere Oxyderivate des Anthrachinons.

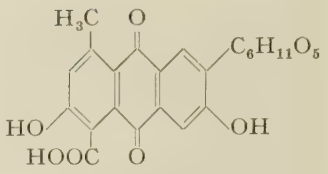
Der Cochenillefarbstoff, der aus den Weibchen der hauptsächlich in Zentralamerika vorkommenden Schildlausart *Coccus cacti* durch Trocknen und Zerreiben gewonnen wird, hat sein färbendes Prinzip in der Karminsäure, deren Struktur nach DIMROTH[1] wahrscheinlich der untenstehenden Formel entspricht. Cochenille wird heute noch verwendet; es stellt einen zwar sehr teuren, aber schönen und echten Beizenfarbstoff dar. Der Kermesfarbstoff, der auf ähnliche Art wie die Cochenille aus verschiedenen europäischen Arten von Schildläusen (*Coccus ilicis* u. a.) gewonnen wurde, der aber schon seit langer Zeit nicht mehr verwendet wird, da er durch die Cochenille verdrängt wurde, enthält nach einer anderen Arbeit von DIMROTH[2] ebenfalls ein Anthrachinonderivat, die Kermessäure. Ihr kommt die Formel eines 1,2- oder -3,4,7-Tetraoxy-3-oder-2-azetyl-anthrachinons zu.

[1] O. DIMROTH, Ber. dtsch. chem. Ges. *42*, 1611 (1909); Liebigs Ann. Chem. *399*, 1 (1913). – O. DIMROTH und B. KÄMMERER, Ber. dtsch. chem. Ges. *53*, 471 (1920).

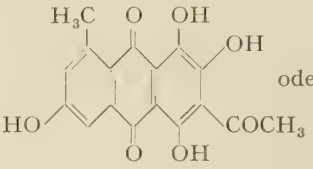
[2] O. DIMROTH und A. FICK, Liebigs Ann. Chem. *411*, 315 (1916).



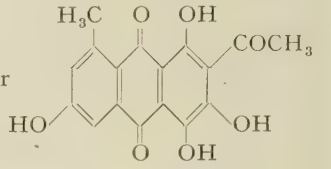
Alizarin



Karminsäure

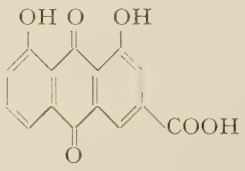


oder

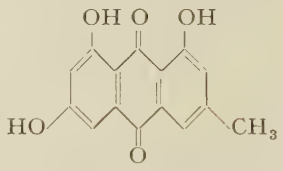


Kermessäure

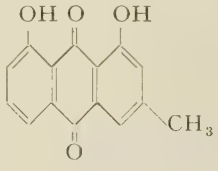
Eine andere Gruppe von Anthrachinonderivaten findet sich in einer Reihe von purgierenden Drogen und verursacht deren teilweise sogar drastische abführende Wirkung. So finden wir in verschiedenen Rhabarberarten (*Rheum officinale, Rh. palmatum* u. a.) das Rhein, das Frangulaemodin, die Chrysophansäure und ein Glukosid des Frangulaemodins. In *Aloe* finden wir Aloeemodin und ein Glukosid eines noch nicht identifizierten Anthrachinonderivats, in der Chayawurzel, dem Rhizom von *Oldenlandia umbellata*, Methyläther des Alizarins und anderer Oxyanthrachinone. Die wirksamen Bestandteile der Sennesblätter (Blätter von *Cassia angustifolia* und *C. acutifolia*) sind Rhein und Aloeemodin, diejenigen der Faulbaumrinde (Rinde von *Rhamnus frangula*) Frangulaemodin und Chrysophansäure. In *Morinda*arten, einer Gattung der Rubiaceen, findet sich das Morindon.



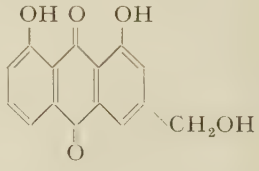
Rhein



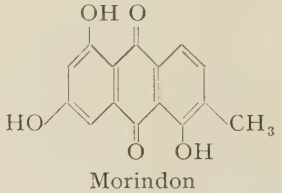
Frangulaemodin



Chrysophansäure



Aloeemodin



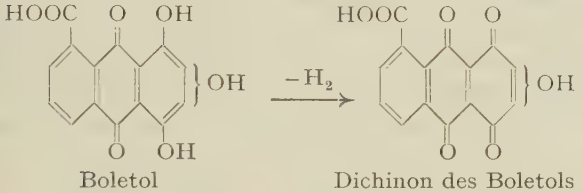
Morindon

Die pharmakologische Wirkung der genannten Drogen läßt sich auch durch synthetische Oxyanthrachinone erhalten. So ist das 1,8-Dioxyanthrachinon ein unter dem Namen Istizin bekanntes und vielverwendetes Abführmittel.

Es ist bemerkenswert, daß entgegen der Erwartung oft nahe verwandte Pflanzen verschiedene Anthrachinone aufweisen, während hingegen die gleichen Anthrachinone bei einander gar nicht verwandten

Pflanzengattungen vorkommen. Genetische Zusammenhänge lassen sich jedenfalls aus dem Vorkommen bestimmter Anthrachinonderivate nicht schließen. Man kann auch nicht von bevorzugten Organen der Pflanzen sprechen, in denen Anthrachinone vorkommen, da man sie bei verschiedenen Pflanzen in den verschiedenen Teilen auffindet.

Im Steinpilz und in anderen *Boletus*arten findet sich eine gelbe Verbindung, die an der Luft in ein blaues Pigment übergeht. Dieser Vorgang wurde schon seinerzeit von G. Bertrand[1] anläßlich seiner Arbeiten über Oxydasen eingehend untersucht; Bertrand erklärte die Blaufärbung an der Luft durch die Wirkung einer im Pilz vorhandenen Oxydase. Kögl[2], der den Farbstoff aus *Boletus* isolierte, konnte diese Befunde bestätigen. Das Boletol, wie das Pigment von Kögl genannt wurde, ist eine 1,2-oder-3,4-Trioxy-anthrachinon-5-carbonsäure, die durch Oxydation in das entsprechende Dichinon übergeht, das blaue Salze bildet.



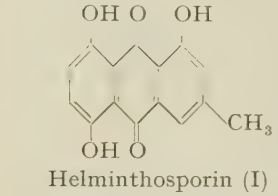
Boletol — Dichinon des Boletols

Ein anderer von Kögl[3] entdeckter Pilzfarbstoff, der sich vom Anthrachinon ableitet, ist das Dermocybin aus *Dermocybe sanguinea*, einem Blätterpilz, das in diesem neben Frangulaemodin vorkommt. Die Struktur dieses Stoffes ist noch nicht genau bestimmt; es handelt sich jedenfalls um ein Tetraoxy-methoxy-β-methyl-anthrachinon.

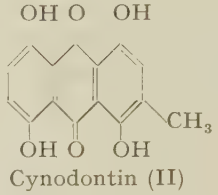
Raistrick und Mitarbeiter konnten aus *Helminthosporium*arten eine Anzahl von Anthrachinonderivaten isolieren. Das Helminthosporin[4] (I) ist das 2-Methyl-4, 5, 8-trioxy-anthrachinon. Es wurde aus *Helminthosporium gramineum* isoliert. Aus *H. cynodontis* und *H. euchlenae* wurde das Cynodontin[5] (II) gewonnen, das ein Oxyhelminthosporin darstellt und die zusätzliche Hydroxylgruppe in *l*-Stellung trägt. *H. catenarium*[6] bildet das Catenarin (III), dem die Formel eines 1, 4, 5, 7-Tetraoxy-2-methyl-anthrachinons zukommt; aus dem Myzel von *H. tritici-vulgaris* wurden ebenfalls große Mengen von Catenarin und daneben ein anderes Anthrachinonderivat, das Tritisporin, welches wahrscheinlich ein β-Oxymethyl-tetraoxy-anthrachinon ist, isoliert. Bei *Helminthosporium*arten konnten die englischen Forscher feststellen, daß das Vorkommen von Anthrachinonderivaten weitgehend artspezifisch ist; so geben alle Arten, die nach Nisikado zur Gruppe *Cylindro-Helminthosporium* gehören, gute Ausbeuten an Anthrachinonen, während bei *Eu-Helminthosporium*arten keine oder nur Spuren von Anthrachinonen gefunden werden.

Ein 7-Methyläther des Catenarins wurde in Arten von *Aspergillus glaucus* vorgefunden. Er wurde Erythroglaucin (IV) genannt und seine Struktur von Anslow und Raistrick[1] aufgeklärt. Auch aus einem Stamm von *Penicillium cyclopium* Westl. wurden Anthrachinonderivate gewonnen; es handelt sich hier um die Emodinsäure (4, 5, 7-Trioxy-anthrachinon-2-carbonsäure) (V) und das ω-Oxyemodin (4, 5, 7-Trioxy-2-oxymethyl-anthrachinon)[2] (VI). Eine sehr ähnliche Substanz wurde von Posternak und Jacob[3] aus Kulturflüssigkeit von *Penicillium citroroseum* Dierckx isoliert. Es erscheint möglich, daß das von den Autoren sogenannte Citrorosein mit dem ω-Oxyemodin von Anslow, Breen und Raistrick identisch ist.

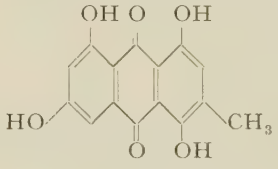
Das als Flechtenfarbstoff schon seit langem bekannte Physcion (VII) wurde von Raistrick und Mitarbeitern[4] aus *Aspergillus glaucus* Link isoliert und auch in anderen *Aspergillus*arten festgestellt.



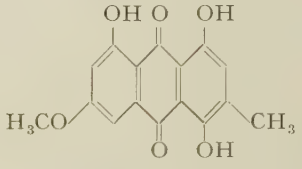
Helminthosporin (I)



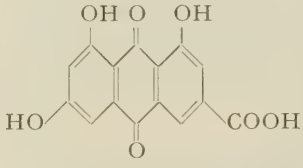
Cynodontin (II)



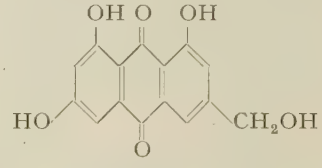
Catenarin (III)



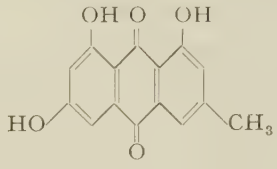
Erythroglaucin (IV)



Emodinsäure (V)



ω-Oxyemodin (VI)



Physcion (VII)

Über die Bildung der Anthrachinone durch Phanerogamen und Pilze ist so gut wie gar nichts bekannt. Es ist bemerkenswert, daß die von Raistrick und Mitarbeitern isolierten Anthrachinone durchwegs von Pilzstämmen stammten, die auf Nährlösung nach Czapek-Dox, welche Glukose als einzige Kohlenstoffquelle enthält, gewachsen waren. Die Pilze sind also

[1] G. Bertrand, C. r. Acad. Sci. *124*, 1355 (1897); *133*, 1233 (1901); *134*, 124 (1902).

[2] F. Kögl und W. B. Dejs, Liebigs Ann. Chem. *515*, 10 und 23 (1934).

[3] F. Kögl und J. J. Postowsky, *ib. 444*, 1 (1925).

[4] J. H. V. Charles, H. Raistrick, R. Robinson und A. R. Todd, Bioch. J. *27*, 499 (1933).

[5] H. Raistrick, R. Robinson und A. R. Todd, Bioch. J. *27*, 1170 (1933).

[6] H. Raistrick, R. Robinson und A. R. Todd, *ib. 28*, 559 (1934). – W. K. Anslow und H. Raistrick, *ib. 34*, 1124 (1940).

[1] W. K. Anslow und H. Raistrick, *ib. 34*, 1124 (1940); *35*, 1006 (1941).

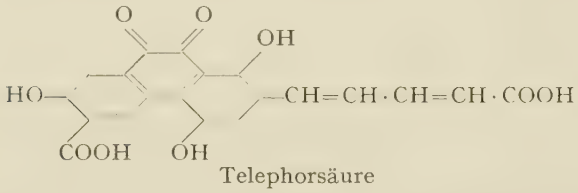
[2] W. K. Anslow, J. Breen und H. Raistrick, *ib. 34*, 159 (1940).

[3] T. Posternak und J. P. Jacob, Helv. chim. acta *23*, 237 (1940).

[4] H. R. Raistrick, R. Robinson und A. R. Todd, J. chem. Soc. 80 (1937).

imstande, ebenso wie die Benzochinonderivate Fumigatin oder Spinulosin, auch Anthrachinonderivate aus Kohlehydraten zu synthetisieren. Der Weg, auf welchem dieser Aufbau vor sich geht, ist noch völlig unbekannt. Auch über die Funktionen der Anthrachinonderivate bei den Pflanzen haben wir nur wenig Kenntnisse. Vielleicht spielen die Anthrachinone ebenso wie andere Chinonderivate in ihrer Eigenschaft als reversible Redoxsysteme die Rolle akzessorischer Atmungskatalysatoren.

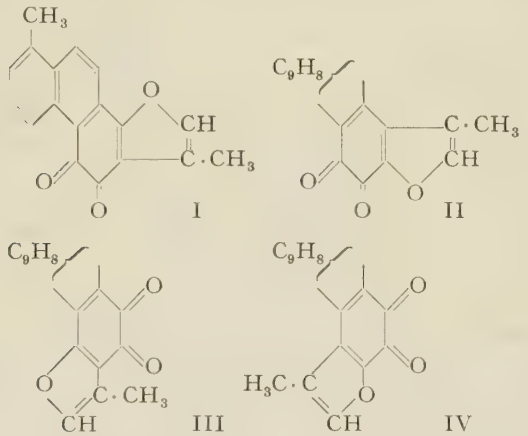
Von Derivaten des Phenanthrenchinons ist als Naturstoff bisher nur ein Pilzfarbstoff, die Telephorsäure, bekannt geworden. Diese Substanz wurde schon seinerzeit von Zopf[1] aus den zur Klasse der Basidiomyzeten gehörenden Pilzen der *Telephora*gruppe isoliert und später von Kögl und Mitarbeitern[2] als Derivat des Phenanthrenchinons identifiziert. Ihr kommt die untenstehende Formel zu.



Telephorsäure

Ein anderes von Kögl untersuchtes Pilzpigment, das aus *Phoma terrestris* Hansen isolierte Phomazarin[3], dürfte ein Chinonderivat des Azaanthracens oder des Azaphenanthrens sein.

Als Chinonderivat des Phenanthrofurans wurde eine der seinerzeit von M. Nakao und T. Fukushima[4] beschriebenen Substanzen aus der chinesischen Droge *Tanshen* (*Salvia miltiorrhiza*) erkannt. Wessely[5] hat diese Stoffe näher untersucht und auf Grund von Abbaureaktionen festgestellt, daß dem Tanshinon I eine der vier unten angegebenen Formeln zukommt. Das Tanshinon II ist vermutlich ein noch höher kondensiertes System.



I II III IV

[1] W. Zopf, Bot. Z. 69 (1889).

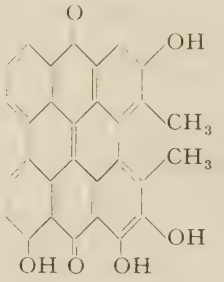
[2] F. Kögl, H. Erxleben und L. Jänecke, Liebigs Ann. Chem. *482*, 105 (1930).

[3] F. Kögl und I. Sparenburg, Rec. Trav. chim. Pays-bas *59*, 1180 (1940).

[4] M. Nakao und T. Fukushima, J. pharmac. Soc. Japan *54*, 154 (1934).

[5] F. v. Wessely und A. Bauer, Ber. dtsch. chem. Ges. *75*, 617 (1942). – F. v. Wessely und Shiu Wang, *ib.* *73*, 19 (1940). – F. v. Wessely und T. Lauterbach, *ib.* *75*, 958 (1942).

Ein besonders interessanter Naturstoff, das photodynamisch wirksame Hypericin, dürfte nach Brockmann und Mitarbeitern[1] auch ein Chinonderivat sein. Durch Untersuchungen von Tappeiner[2] ist es bekannt, daß gewisse fluoreszierende Farbstoffe Tiere und Menschen gegen Licht sensibilisieren können. Derartige Substanzen kommen in verschiedenen Pflanzen vor und können daher von Pflanzenfressern mit der Nahrung aufgenommen werden. Dies ist unter anderen beim Buchweizen der Fall; Tiere mit weißem oder hellem Fell können nach Fütterung mit Buchweizen an einer «Fagopyrismus» genannten Lichtkrankheit erkranken. Eine ähnliche Erkrankung ist der «Lathyrismus», der nach Verfütterung gewisser Sorten von Platterbsen auftritt. In Südafrika beobachtet man nach Fütterung mit *Tribulus terrestris* eine gleichartige, dort «Geeldikop» genannte Lichtkrankheit. Schließlich ist es seit langem bekannt, daß bei Tieren mit hellem Fell nach Aufnahme von Johanniskraut (*Hypericum perforatum*) eine «Hyperizismus» genannte ebensolche Lichterkrankung auftritt. Während die die Lichtkrankheiten durch die vorerwähnten Pflanzen verursachenden Stoffe noch völlig unbekannt sind, gelang es Brockmann und seinen Mitarbeitern, den Wirkstoff von *Hypericum perforatum* zu isolieren und chemisch zu charakterisieren. Es handelt sich nach Eigenschaften, Abbau- und Reaktionsprodukten um ein Chinonderivat des Naphthodianthrons oder des Helianthrons. Die Autoren schlagen die untenstehende Formel als die wahrscheinlichste vor.



Hypericin
(wahrscheinliche Formel)

Das reine Hypericin hat eine sehr starke photodynamische Wirkung; so wirken 1–2 mg bei weißen Ratten im Sonnenlicht binnen 1–2 Stunden tödlich. Im Dunkeln wird eine bedeutend größere Dosis vertragen. Nach einer Hypothese von Brockmann wird Hypericin aus Anthrachinonderivaten gebildet, welche in *Hypericum* nachgewiesen wurden.

Substanzen mit Vitamin-K-Wirkung

Die chemische und biologische Bedeutung der Naphthochinonderivate mit Vitamin-K-Wirkung wurde bereits in mehreren leicht zugänglichen Zusammen-

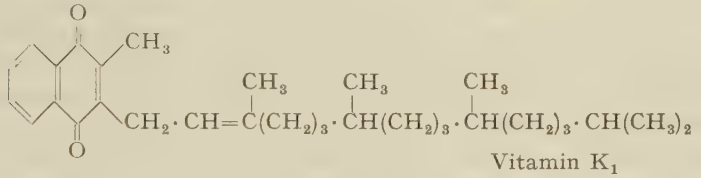
[1] H. Brockmann, F. Pohl, K. Maier und M. N. Haschad, Liebigs Ann. Chem. *553*, 1 (1942).

[2] H. v. Tappeiner, Erg. Physiol. *8*, 698 (1905).

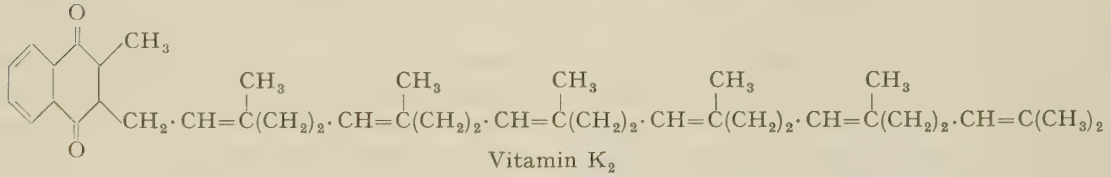
fassungen[1] behandelt. Es soll hier deshalb nur das Wesentlichste darüber gebracht werden.

Nach Untersuchungen von H. Dam[2] neigen Hühner, welche lipoidarme Nahrung erhalten, zu Blutungen in verschiedenen Körperteilen und Organen. Man konnte feststellen, daß diese Blutungen ihre Ursache im Fehlen eines fettlöslichen Nahrungsfaktors haben, der Vitamin K, antihämorrhagisches oder Koagulationsvitamin genannt wird. Karrer[3] konnte aus *Alfalfa*heu eine reine vitamin-K-aktive Substanz isolieren, während E. A. Doisy und Mitarbeiter[4] aus faulendem Fischmehl einen kristallinen Stoff darstellen konnten, der dieselbe Wirkung hat wie das von Karrer hergestellte Produkt, dem aber eine andere Konstitution zukommt. Die Substanz aus *Alfalfa* wurde Vitamin K_1 oder auch nach Karrer Phyllochinon genannt; das Produkt aus Fischmehl erhielt den Namen Vitamin K_2.

Die Konstitution beider Stoffe konnte durch Abbaureaktionen, diejenigen des Vitamin K_1 auch durch mehrere Synthesen bewiesen werden. Es handelt sich bei beiden Substanzen um Derivate des α-Naphthochinons. Die erste Synthese des Vitamins gelang Fieser[5] aus 2-Methyl-naphthohydrochinon und Phytol unter Verwendung eines Katalysators.



Vitamin K_1



Vitamin K_2

Das Vitamin K_1 kommt in allen grünen Pflanzenteilen vor, fehlt dagegen in chlorophyllarmen Organen. Es ist in den Chloroplasten der Zelle lokalisiert, während es im Zellsaft und im Protoplasma kaum nachgewiesen werden kann. Es wurde festgestellt, daß im Licht mehr Vitamin in der Pflanze gebildet wird als in der Dunkelheit. Daraus und aus der Tatsache, daß Phytol sowohl im Chlorophyll als auch im Vitamin K_1 ein wesentlicher Bestandteil ist, kann geschlossen werden, daß zwischen den beiden Stoffen in der Pflanze irgendein funktioneller Zusammenhang bestehen dürfte. Genaueres über die Bedeutung des Vitamins für die Pflanze ist allerdings noch nicht bekannt geworden.

Beim Menschen und beim Säugetier wird Vitamin K in hinreichender Menge durch die Bakterienflora des Darmes erzeugt; Mangelerscheinungen treten nur auf, wenn die Gallenzufuhr in den Darm, welche zur Resorption der Fette und damit auch des fettlöslichen Vitamins unumgänglich nötig ist, gestört wird. Die Avitaminose äußert sich durch Senkung des Prothrombingehalts des Blutes und dadurch auch durch verlängerte Gerinnungsdauer und durch Blutungen. Es ist daher wahrscheinlich, daß das Vitamin zur Bildung des Prothrombins notwendig ist; vielleicht bildet es sogar die prosthetische Gruppe des Prothrombins. *In vitro* ist das Vitamin K allerdings nicht imstande, Prothrombin zu bilden und hat auch keinerlei Einfluß auf die Blutgerinnung. Dagegen läßt sich bei K-avitaminotischen Tieren die Prothrombinbildung nach Applikation einer wirksamen Dosis des Vitamins zeitlich verfolgen. Bei Vögeln treten K-Avitaminosen häufiger auf; im kurzen Dickdarm der Vögel kann die Bakterienflora ausreichende Mengen des Wirkstoffs nicht erzeugen; daher sind Vögel auf die Zufuhr des Vitamins mit der Nahrung angewiesen.

Die Konstitutionsspezifität des Vitamins K ist auffallend gering. Nach verschiedenen Untersuchungen sind neben den natürlich vorkommenden Vitaminen auch eine Reihe anderer Substanzen, und zwar viele Naphthochinonderivate, sowie Naphthohydrochinone und deren Ester in gleicher Weise wirksam. So hat das 2-Methyl-naphthochinon-(1,4), also das niedrigste Homologe des Vitamin K eine sogar etwas stärkere Wirkung als das natürliche Produkt. Auch das schon erwähnte Phthiocol, das aus Tuberkelbazillen isoliert werden kann, erwies sich als aktiv. (Für Einzelheiten wird auf die eingangs zitierten Zusammenfassungen verwiesen.)

In der Therapie finden Vitamin-K-Präparate oft in Verbindung mit Gallenbestandteilen bei Fällen von Hypothrombinämie verschiedenster Ätiologie erfolgreiche Anwendung. So können die hämorrhagische Diathese nach Okklusionsikterus (Gelbsucht unter Verschluß des Gallenabflusses), Hypothrombinämien nach Operationen, nach Sprue (eine tropische Ver-

[1] Vgl. zum Beispiel W. John, Angew. Chem. *54*, 209 (1941). – B. Riegel, Erg. Physiol. *43*, 133 (1940). – E. A. Doisy, S. B. Binkley und S. A. Thayer, Chem. Rev. *28*, 477 (1941).

[2] H. Dam, Biochem. Z. *215*, 475 (1929).

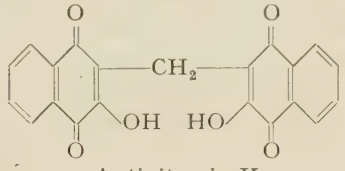
[3] P. Karrer und A. Geiger, Helv. chim. acta *22*, 945 (1939).

[4] S. B. Binkley, S. A. Thayer, D. W. Mac Corquodale und E. A. Doisy, J. biol. Chem. *130*, 219 (1939).

[5] L. F. Fieser, D. M. Bowen, W. P. Campbell, M. Fieser, E. M. Fry, R. N. Jones, B. Riegel, C. E. Schweitzer und P. G. Smith, J. Amer. chem. Soc. *61*, 1925 (1939); *61*, 1926 (1939).

dauungsstörung), nach Zöliakie der Kinder (eine Verdauungsstörung bei Kindern von 1–5 Jahren), sowie die Hypothrombinämie der Neugeborenen durch Vitamin-K-Therapie günstig beeinflußt werden. Für therapeutische Zwecke werden heute fast nur mehr die leicht zugänglichen synthetischen Naphthochinonderivate und Ester der Naphthohydrochinone verwendet. Erfreulich ist die große Anwendungsbreite der Vitamin-K-Therapie; hypervitaminotische Störungen scheinen erst bei ganz großer Überdosierung vorzukommen.

Eine interessante Neuentdeckung wurde kürzlich von Meunier und Mitarbeitern[1] gemacht. Die französischen Forscher beschreiben Substanzen mit einer dem Vitamin K antagonistischen Wirkung. Die neuen Stoffe zeigen eine dem Vitamin verwandte Konstitution und sind mit vitamin-K-aktiven Substanzen isomorph. Der Antagonismus soll also demjenigen entsprechen, der nach der Theorie von Woods und Fildes zwischen den Sulfonamiden und der *p*-Aminobenzoesäure besteht.



«Antivitamin K»

In letzter Zeit wird behauptet, daß auch die durch 3,3′-Methylen-bis-(4-Oxycumarin) bewirkte Hemmung der Blutgerinnung auf einem Antagonismus dieser Substanz gegenüber dem Vitamin K beruhe. Auch das Oxydationsprodukt des α-Tocopherols, das α-Tocopherolchinon, soll eine ähnliche antagonistische Wirkung entfalten[2].

Kürzlich haben russische Forscher[3] die Meinung vertreten, daß die antihämorrhagische Wirkung des Vitamin K und anderer Naphthochinonderivate darauf beruhe, daß sie im Körper zu Phthalsäure abgebaut würden und daß diese das wahre Agens der Vitamin-K-Wirkung darstelle. Die bisher als Vitamin K bezeichneten Substanzen seien in Wirklichkeit nur Provitamine. Die Autoren behaupteten, daß Phthalsäurederivate, die genügend schwer löslich sind, ebenfalls Vitamin-K-Wirkung zeigten. Diese Ansichten wurden mehrfach und insbesondere durch P. Karrer und F. Koller[4] bestritten. Letztere prüften die Wirkung von Phthalsäure und ihren Derivaten bei einem Falle von Stauungsikterus und erhielten negative Resultate, während sich ein Naphthochinonderivat als wirksam erwies. Damit erscheint die besprochene Theorie als widerlegt.

Es gibt eine Anzahl biologischer und auch chemischer Methoden zur Austestung von Vitamin-K-Präparaten; diese können hier nur kurz erwähnt werden. Als Kriterium für die biologische Austestung wird allgemein die Beeinflussung der Blutgerinnung benützt. Scudi und Buhs verwenden die katalytische Reduktion des Vitamin K bzw. die nachfolgende Bestimmung des Hydrochinons mit 2,6-Dichlorphenol-indophenol als chemische Bestimmungsmethode.

Echinochrome und verwandte Stoffe

Eine Reihe von Farbstoffen, die wir in verschiedenen Organen von Echinodermen finden, gehören zur Gruppe der Naphthochinonderivate. Unter diesen sind einige von großer biologischer Bedeutung und waren in den letzten Jahren Objekt ausgedehnter Forschungen.

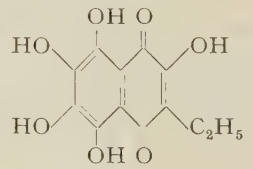
«Echinochrom» war ursprünglich der Name, den McMunn 1885 dem Pigment der Leibeshöhlenflüssigkeiten verschiedener Seeigelarten gab. McMunn nahm an, daß es sich um einen Sauerstoffüberträger handle, der dem Farbstoff der roten Blutzellen bei höheren Tieren entspreche.

McClendon[1] bezeichnete dagegen mit Echinochrom den von ihm untersuchten Farbstoff der roten Blutzellen von *Arbacia punctulata* und konnte feststellen, daß derselbe Farbstoff auch in den Chromatophoren der Eier und in den Stacheln derselben Organismen enthalten war.

F. M. Lillie[2] zeigte dann, daß ein von Seeigeln abgesonderter Stoff imstande ist, im Meerwasser Spermatozoen anzulocken. Er nannte diesen Wirkstoff Fertilisin.

Ball[3] gelang es 1936, den Farbstoff aus Eiern von *Arbacia punctulata* kristallisiert zu erhalten und bald darauf wurde von Lederer und Glaser[4] für diesen Stoff die Summenformel $C_{12}H_{10}O_7$ aufgestellt.

R. Kuhn und K. Wallenfels[5] konnten 1939 die Konstitution des Farbstoffs aus Eiern von *Arbacia pustulosa* aufklären; diese Substanz wurde von den Forschern Echinochrom A genannt. Ihm kommt die Konstitution eines 2-Äthyl-pentaoxy-naphthochinon-(1,4) zu, welche Formel später von Wallenfels[6] durch Synthese bestätigt wurde.



Echinochrom A

[1] P. Meunier, C. Mentzer, Ng. Ph. Buu Hoï und P. Gagniant, Bull. Soc. Chim. biol. *25*, 384 (1943). – P. Meunier, C. Mentzer und Ng. Ph. Buu Hoï, *ib.* *27*, 191 (1945).

[2] D. W. Woolley, Adv. Enzymology *6*, 129 (1946).

[3] M. M. Shemiakin, L. A. Shukina und J. B. Shvezow, J. Amer. chem. Soc. *65*, 2164 (1943).

[4] P. Karrer und F. Koller, Helv. chim. acta *26*, 2114 (1943).

[1] J. F. McClendon, J. biol. Chem. *11*, 435 (1912).

[2] F. M. Lillie, J. exper. Zool. *16*, 523 (1914).

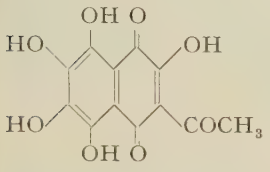
[3] E. G. Ball, J. biol. Chem. *114*, 649 (1935).

[4] E. Lederer und R. Glaser, C. r. Acad. Sci. *207*, 454 (1938).

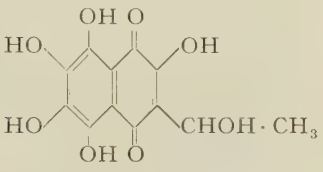
[5] R. Kuhn und K. Wallenfels, Ber. dtsch. chem. Ges. *72*, 1407 (1939).

[6] K. Wallenfels und A. Glauhe, *ib.* *76*, 325 (1943).

Kuhn und Wallenfels[1] gelang es auch, die Konstitution des isolierten Stachelfarbstoffs von *Arbacia pustulosa*, der von dem Pigment der Eier verschieden ist, klarzustellen. Der von den Autoren als Spinon A bezeichnete Stoff ist ein Azetyl-pentaoxy-naphthochinon-1,4), unterscheidet sich also vom Echinochrom durch die Azetylgruppe an Stelle der Äthylgruppe. Als Vorstufe des Spinon A, das vielleicht erst während der Aufarbeitung entsteht, wird ein entsprechendes Carbinol vermutet, für welches der Namen Spinochrom A vorgeschlagen wird.



Spinon A



Spinochrom A

Einen von Spinon A verschiedenen Farbstoff haben Lederer und Glaser[2] aus den Stacheln von *Paracentrotus lividus* isoliert. Dieses Pigment hat die Summenformel $C_{12}H_{10}O_8$; daneben fanden sie in *Paracentrotus*stacheln noch einen Farbstoff der Bruttoformel $C_{12}H_{10}O_7$, den sie für Echinochrom hielten. Musajo und Minchilli[3] zeigten jedoch, daß dieser Farbstoff eine Azetylgruppe hat, und schrieben ihm die Konstitution eines 2-Azetyl-tetraoxy-naphthochinons zu. Aus Seeigeln des Stillen Ozeans konnten Kuroda und Ohshima[4] drei verschiedene Stachelfarbstoffe isolieren, deren Struktur noch nicht völlig aufgeklärt ist, die aber auch als Naphthochinonderivate anzusprechen sind.

Die physiologische Bedeutung der Echinochrome wurde insbesondere von Kuhn, Wallenfels, Hartmann und Schartau aufgeklärt. Nach Kuhn und Wallenfels[5] kommt das Echinochrom A in den Eiern von *Arbacia pustulosa* als prosthetische Gruppe hochmolekularer Symplexe vor und kann daraus durch Extraktion mit Seewasser oder 4%iger Kochsalzlösung gewonnen werden. Wir haben es hier mit einem ternären und einem binären Symplex zu tun. Der ternäre Symplex läßt sich wie folgt symbolisieren: *Echinochrom... Träger... Hilfsträger.* Dieser Symplex kann nur bei Extraktion des ganzen *Arbacia*eies gewonnen werden; bei Extraktion von Eiern ohne deren Gallerthülle erhält man einen binären Symplex: *Echinochrom... Träger.*

Die physiologische Wirksamkeit des Echinochroms und seiner Symplexe ist eine mehrfache. Bringt man geringe Mengen des Farbstoffs oder des ternären Symplexes zu einem Tropfen Seewasser, in dem Seeigelspermatozoen suspendiert sind, so geraten diese in lebhafte Bewegung (aktivierende Wirkung). Eine Kapillare mit Echinochromlösung in eine Spermasuspension gebracht bewirkt Anlockung der Spermatozoen und Wanderung in die Kapillare (chemotaktische Wirkung). Schließlich zeigt sich auch noch eine auffallende agglutinierende Wirkung bei den Spermatozoen. Die Agglutinationsfähigkeit des Echinochroms gegenüber Seeigelspermatozoen läßt sich nach Hartmann und Mitarbeitern[1] noch in einer Verdünnung von 1:2,5 Milliarden nachweisen. Während der ternäre Symplex diese Wirkungen in teilweise noch verstärktem Ausmaße zu entfalten imstande ist, wirkt eine Lösung des binären Symplexes nur in Gegenwart des aus den Gallerthüllen zu gewinnenden Hilfsträgers.

Hartmann und Schartau[2] untersuchten auch eine Anzahl anderer Naphthochinonderivate auf ihre Wirkung auf die Spermatozoen von *Arbacia*. Dabei konnten sie feststellen, daß Juglon (s. d.) eine aktivierende Wirkung auf die Spermatozoen entfalten kann, während Naphthazarin (5,8-Dioxy-naphthochinon-1,4) und Naphthopurpurin (5,6,8-Trioxy-naphthochinon-1,4) agglutinierend wirken. Eine Mischung von Naphthazarin und Juglon bewirkt beides. Interessant ist, daß Naphthazarin unter Belichtung nach kurzer Zeit die Fähigkeit verliert, Sperma sofort zu agglutinieren. Es zeigt dann eine aktivierende Wirkung und erst später folgt schwache Agglutination.

Kuhn und Wallenfels haben auch Untersuchungen über die Bildung des Echinochroms in den Ovarien angestellt. In Ovarien beginnender Reifung, die eine violettrote Färbung zeigen, fanden sie zwei noch nicht aufgeklärte Farbstoffe, die sie Echinochrom B und C nannten, neben sehr wenig Echinochrom. In den braunroten vollreifen Ovarien ist nur mehr Echinochrom enthalten. Nach einem Befund von Wallenfels[3] ist der Farbstoff der roten Blutzellen von *Arbacia pustulosa* mit dem Echinochrom A identisch. Damit findet die eingangs erwähnte These von McMunn, daß das Echinochrom auch eine Rolle als Sauerstoffüberträger spielt, eine Bestätigung. Auch in den Blutzellen ist das Echinochrom an einen hochmolekularen Träger gebunden, der aber von dem Symplexbildner der Eier verschieden ist.

Nach einem Vorschlag von Hartmann und Mitarbeitern[4] werden die in den Eiern vorkommenden Echinochromsymplexe als Gamone (Gametenhormone) bezeichnet. Sie zeigen eine Reihe von Eigenschaften, die auch den Hormonen der höheren Tiere zukommen.

[1] R. Kuhn und K. Wallenfels, Ber. dtsch. chem. Ges. *74*, 1594 (1941).
[2] E. Lederer und R. Glaser, C. r. Acad. Sci. *207*, 454 (1941).
[3] L. Musajo und M. Minchilli, Boll. sci. Fac. Chim. ind., Bologna *3*, 113 (1942); Chem. Zbl. I., 1275 (1943).
[4] C. Kuroda und H. Ohshima, Proc. imp. Acad. (Tokyo) *16*, 214 (1940).
[5] R. Kuhn und K. Wallenfels, Ber. dtsch. chem. Ges. *73*, 458 (1940).

[1] M. Hartmann, O. Schartau und K. Wallenfels, Biol. Zbl. *60*, 398 (1940).
[2] M. Hartmann und O. Schartau, *ib.* *59*, 571 (1939).
[3] K. Wallenfels, Ber. dtsch. chem. Ges. *76*, 323 (1943).
[4] M. Hartmann und O. Schartau, Biol. Zol. *59*, 571 (1939).

So werden sie in einem spezifischen Organ, dem Ovar, gebildet und unter physiologischen Bedingungen sezerniert; allerdings nicht in die Blutbahn, sondern ins Meerwasser, wo der Befruchtungsvorgang sich abspielt. Da die Symplexe vom Weibchen erzeugt werden, können wir hier von Gynogamonen sprechen. Im übrigen scheint auch die Existenz von Androgamonen bei Seeigeln sichergestellt zu sein. Nach einer Arbeit derselben Forschergruppe[1] werden Stoffe von den Spermatozoen der Seeigel sezerniert, die imstande sind, die Beweglichkeit der Spermien einzuschränken, die aktivierende wie auch die agglutinierende Wirkung des Echinochromsymplexes aufzuheben und schließlich die Eigallerten zu lösen. Ob diesen vier verschiedenen Wirkungen auch vier verschiedene Androgamone zuzuschreiben sind, steht noch nicht fest, da über die Natur der Androgamone bisher noch nichts bekannt geworden ist. *(Fortsetzung folgt)*

[1] M. Hartmann, R. Kuhn, O. Schartau und K. Wallenfels, Naturwiss. *28*, 144 (1940).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

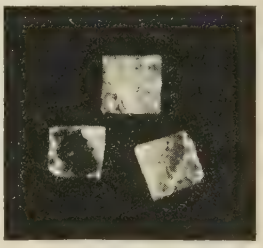
Untersuchungen an Bariumtitanat-Einkristallen

In letzter Zeit sind verschiedene Arbeiten[1–5] über das interessante Verhalten der dielektrischen und strukturellen Eigenschaften eines aus $BaCO_3$ und TiO_2 zusammengesinterten polykristallinen Bariumtitanats erschienen. Da das dielektrische und piezoelektrische Verhalten einer Substanz im Zusammenhang mit der Kristallstruktur aber nur an Einkristallen studiert werden kann, versuchten wir, Einkristalle von Bariumtitanat durch Züchtung aus einem geeigneten Lösungsmittel herzustellen[6].

Es ist uns nun gelungen, Kristalle dieser Substanz in verschiedenen Modifikationen zu erhalten: neben einer vermutlich hexagonalen und einer niedriger symmetrisch kristallisierenden Modifikation haben wir auch die von uns gewünschten Kristalle von kubischem Habitus hergestellt.

Das Aussehen dieser Kristalle hängt sehr von ihrer Nachbehandlung ab; durch Tempern kann man die schwarzen, metallisch glänzenden Kristalle in eine rotbraun durchscheinende Form überführen. Die Bariumtitanat-Einkristalle entstehen meist als quadratische Plättchen und Würfel, hie und da auch als Kubooktaeder von der Größe bis zu einigen mm Kantenlänge (siehe Fig.).

Vorläufige Messungen der Dielektrizitätskonstanten (DK) an diesen schwarzen Einkristallen haben sowohl die außergewöhnlich hohen Werte der DK bei Zimmertemperatur als auch das schon früher von andern Autoren[1, 2, 5] am Pulver bei höheren Temperaturen gefundene Maximum bestätigt. Allerdings fanden wir das Maximum bei ca. + 80° C statt 127° C, wie von Rushman angegeben wird. (Dieser Unterschied kann vielleicht von Verunreinigungen im gesinterten Pulver verursacht werden.) Außerdem fanden wir aber bei sich bis – 180° C erstreckenden Messungen noch zwei weitere ausgeprägte Maxima der DK (bei – 4° C und – 74° C), worauf dann die DK bei sehr tiefer Temperatur normalen Werten zustrebt.



Weitere Untersuchungen haben ergeben, daß das Bariumtitanat sehr stark piezoelektrisch ist. Dies äußert sich darin, daß auch an kleinsten Kristallplättchen Resonanzfrequenzen gemessen werden können. Der Temperaturverlauf der piezoelektrisch erregten Resonanzfrequenzen zeigt einen ähnlichen Charakter wie beim Seignettesalz, indem bei den Temperaturen der zwei untern DK-Maxima die Frequenz scharfe Minima durchläuft. Anders scheinen die Verhältnisse beim dritten Maximum (+ 80° C) zu liegen; denn von Zimmertemperatur an aufwärts nimmt die Frequenz stetig zu, ohne daß ein Abfall stattfinden würde. Am Umwandlungspunkt selbst kann keine Resonanzfrequenz mehr festgestellt werden. Dies kann entweder die Folge einer Strukturänderung in eine nicht piezoelektrische Modifikation sein oder aber der sehr starken Dämpfung infolge der großen Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit zugeschrieben werden.

An den gezüchteten Bariumtitanat-Einkristallen lassen sich mit der Schaltung von Sawyer und Tower[1] bei Zimmertemperatur sehr schöne Hysteresiskurven beobachten. Bis zur Temperatur der flüssigen Luft ändert sich die Größe und Form der Hysteresiskurven nicht wesentlich, jedoch können an der Steilheit der Flanken die zwei Spitzen der DK bei – 4° C und

[1] B. Wul, Nature *156*, 480 (1945).
[2] B. Wul, Nature *157*, 808 (1946); Philip R. Coursey und K. G. Brand, Nature *157*, 297 (1946).
[3] Helen D. Megaw, Nature *155*, 484 (1945).
[4] Helen D. Megaw, Proc. phys. Soc. *58*, 133 (1946).
[5] D. F. Rushman und M. A. Strivens, Farad. Trans. (1946).
[6] H. Blattner, B. Matthias und W. Merz, Helv. phys. acta *20* (1947), demnächst.

[1] C. B. Sawyer und C. H. Tower, Phys. Rev. *35*, 269 (1930).

– 74° C sehr gut verifiziert werden. Die Größe der Polarisation entspricht nach vorläufigen provisorischen Messungen ungefähr derjenigen von KH_2PO_4. Bei Erwärmung über Zimmertemperatur werden die Hysteresiskurven immer weniger ausgeprägt und nehmen ellipsenförmige Gestalt an. Am Umwandlungspunkt, bei 80° C, scheint die Hysteresis zu verschwinden, doch ist die genaue Feststellung dieses Vorganges wegen der starken Zunahme der Verluste im Kristall erschwert.

Es darf angenommen werden, daß Bariumtitanat-Einkristalle ferroelektrische Eigenschaften zeigen (Verlauf der DK und der Resonanzfrequenz, Hysteresis). Andrerseits ist aber eine Ähnlichkeit zu den Halbleitern nicht abzusprechen (Leitfähigkeit, Farbänderung der Kristalle beim Tempern). Genauere Untersuchungen der erwähnten Eigenschaften der Einkristalle, unter anderem auch ihre Richtungsabhängigkeit, sind im Gange.

H. Blattner, B. Matthias, W. Merz, P. Scherrer

Physikalisches Institut der ETH., Zürich, den 7. März 1947.

Summary

It was possible to produce bariumtitanate monocrystals with ferroelectric qualities, which is shown in the temperature curve of the dielectric constant, in the resonance frequency, and also in hysteresis phenomena.

Die Kristallstruktur von $K(CdCl_3)$

Nach H. Brand[1] läßt sich aus dem Schmelzfluß ein Doppelchlorid $KCl \cdot CdCl_2$ in Form feiner Nadeln von vermutlich orthorhombischer Symmetrie gewinnen. In Anlehnung an diesen Befund gelang die Herstellung nadeliger Kristalle von einigen Millimetern Länge, welche die Bestimmung von Symmetrie und Kristallstruktur des $KCl \cdot CdCl_2 = K(CdCl_3)$ gestatteten. $K(CdCl_3)$ besitzt in der Tat orthorhombische Symmetrie und gehört zum Strukturtyp $E\,2_4$ [2], ist also isotyp mit dem entsprechenden Doppelchlorid des Ammoniums. Die Gitterkonstanten des $K(CdCl_3)$ betragen

$a = 8{,}78 \pm 0{,}01$ Å, $b = 14{,}56 \pm 0{,}05$ Å, $c = 3{,}99 \pm 0{,}02$ Å.

$a:b:c$ somit 0,603 : 1 : 0,274 bzw. 0,603 : 1 : 0,822. Röntgenometrische Dichte 3,33. Bemerkenswert und in voller Übereinstimmung mit der Kristallstruktur dieser Doppelchloride ist die Tatsache, daß das $(NH_4)(CdCl_3)$ verglichen mit dem $K(CdCl_3)$ nur in den Richtungen a und b eine Gitteraufweitung zeigt (in beiden Gitterkonstanten eine Vergrößerung um etwas mehr als 2%), während die Gitterkonstanten c bei den beiden Doppelchloriden innerhalb der Fehlergrenzen übereinstimmen.

E. Brandenberger

Laboratorium für technische Röntgenographie und Feinstrukturuntersuchung am Mineralogischen Institut der ETH. und an der EMPA., Zürich, den 3. März 1947.

Summary

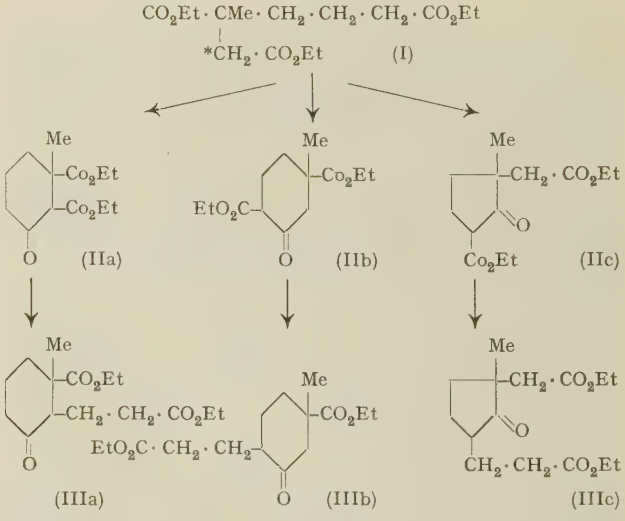
$K(CdCl_3)$ has a structure of the $E\,2_4$-type. In comparison with the isotype $(NH_4)(CdCl_3)$ only two of the three lattice constants have noticeably different values. They are a and b which show a contraction of about 2%, whereas the constant c is about the same for both salts.

[1] H. Brand, N. Jb. Mineral., B. B. *32*, 627 (1911).

[2] Strukturbericht *6*, 13 und 79 (1938), und H. Brasseur und L. Pauling, J. Amer. chem. Soc. *60*, 2886 (1938).

Alkyl Substituents and the Cyclisation of Esters

In a recent paper (awaiting publication elsewhere) the effect of alkyl substituents on the course of cyclisation of esters has been discussed in detail with the conclusion that the sodium condensation of a substituted β-alkyl adipic or pimelic ester leads to a ketonic ester in which the reactive methylene group adjacent to the alkyl radical remains unaffected when there is an alternative way of ring formation. The recent unsuccessful attempt for the synthesis of 8-methyl-0:3:4-*bicyclo*nonan-1:4-dione by Goldberg and his collaborators[1] deserves comment in this respect.



According to the above postulation the methylene group marked (*) in (I) can be expected to remain unchanged during cyclisation so that the cyclised product is either (IIb) or (IIc) but not (IIa). This is supported by the failure in cyclising their final product, since (IIIb) and (IIIc) are not suitable for Dieckmann condensation.

Banerjee's synthesis of 7-methyl-0:3:3-*bicyclo*-octanone[2] was based on the erroneous findings[3] of Baker, and it has been proved beyond doubt that his ketone should be correctly represented as 6-methyl-1:3:2-*bicyclo*heptane-1-one[4].

R. N. Chakravarti

Dyson Perrins Laboratory, Oxford, February 15, 1947.

Zusammenfassung

Die kürzlich von Goldberg und Mitarbeitern erhaltenen Resultate bei einer Esterkondensation nach Dieckmann zeigen erneut, daß bei dieser Reaktion die einer Alkylgruppe benachbarte aktive Methylengruppe nicht in Reaktion tritt, falls anderweitige Ringbildungsmöglichkeiten vorliegen.

[1] Goldberg, Hunziker, Billeter and Rosenberg, Helv. chim. acta *30*, 200 (1947).

[2] Banerjee, Indian chem. Soc. *17*, 423 (1940).

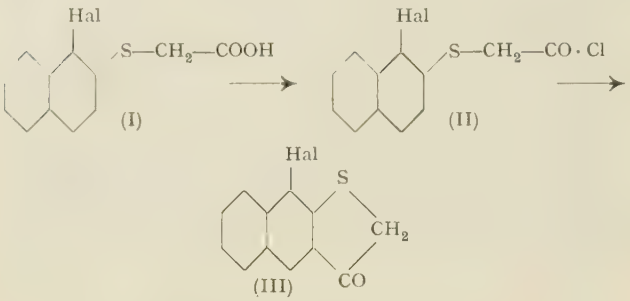
[3] Baker, J. chem. Soc. London 1548 (1931). – Chakravarti, Indian chem. Soc. *20*, 173, 189, 243, 399 (1943).

[4] Chakravarti, Indian chem. Soc. *20*, 248 (1943).

Ringschlußversuche mit halogenierten Naphthalinthioglykolsäuren

Es ist bekannt, daß sich α-halogensubstituierte Naphthalin-2-thioglykolsäuren vom Typus I nach Überführung in das Säurechlorid II mit Aluminiumchlorid

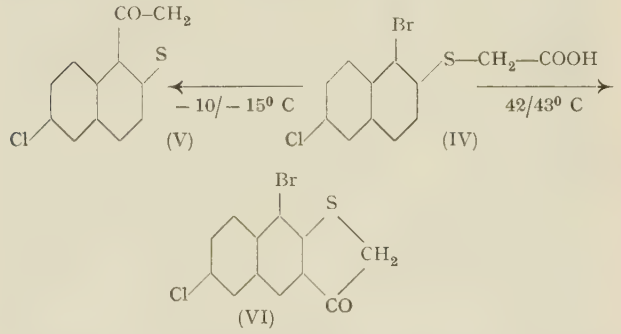
zum entsprechenden 2,3-Naphth-thio-indoxyl (III) zyklisieren lassen.



So ist in einem Patent[1] die Überführung der 1-Chlor- und der 1-Brom-naphthalin-2-thioglykolsäure in die entsprechenden Naphth-thio-indoxyle beschrieben. Die Ringschlußreaktion mit Aluminiumchlorid wurde in diesen Fällen bei 50–70° C vorgenommen.

Beim Übertragen dieser Reaktion auf dihalogenierte Naphthalin-2-thioglykolsäuren, die außer in der 1-Stellung noch Halogen im zweiten Kern besitzen, wurden einige überraschende Resultate erhalten, indem je nach der Temperatur, bei der die Ringschlußreaktion vorgenommen wurde, verschiedene Endprodukte isoliert werden konnten.

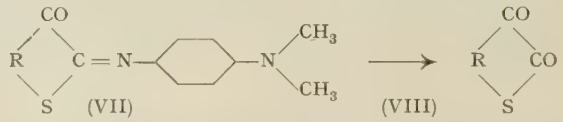
Beispielsweise führte die Umsetzung von Aluminiumchlorid mit dem Säurechlorid der 1-Brom-6-chlor-naphthalin-2-thioglykolsäure (IV) (Smp. 164–165° C) bei tiefer Temperatur (– 10 bis – 15° C) unter Abspaltung des α-ständigen Broms zum 6-Chlor-2,1-naphth-thio-indoxyl (V), während bei erhöhter Temperatur (42–43° C) der Ringschluß wie oben vorwiegend nach der 3-Stellung unter Bildung des 1-Brom-6-chlor-2,3-naphth-thio-indoxyls (VI) eintrat.



Es zeigte sich weiter, daß auch bei anderen dihalogenierten Naphthalin-2-thioglykolsäuren, auf die die Untersuchungen ausgedehnt wurden, nämlich bei der 1,5-Dichlor-naphthalin-2-thioglykolsäure (Smp. 187 bis 187,5° C), der 1,6-Dichlor-naphthalin-2-thioglykolsäure (Smp. 165–166° C) und der 1,8-Dichlor-naphthalin-2-thioglykolsäure (Smp. 173–174° C) prinzipiell dieselben Verhältnisse anzutreffen sind, d. h. der Ringschluß bei tiefer Temperatur führt unter Eliminierung des Halogens in der 1-Stellung vorwiegend zu einem monohalogenierten 2,1-Naphth-thio-indoxyl, während bei höherer Temperatur zur Hauptsache dihalogenierte 2,3-Naphth-thio-indoxyle gebildet werden.

Es ist dazu zu bemerken, daß sich die Temperatur, bei der der Ringschluß nach der 3-Stellung erzwungen werden soll, von Fall zu Fall ändert und in Serienversuchen ermittelt werden muß. Es ist aber in keinem der erwähnten Fälle gelungen, die Bedingungen so zu wählen, daß nur die 2,3-Naphth-thio-indoxyle gebildet wurden, stets waren sie von mehr oder weniger 2,1-Verbindung verunreinigt.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß die Thioglykolsäuren in Chlorbenzol mit Phosphortrichlorid bei 90–95° C in das Säurechlorid übergeführt und die Lösung im Verlaufe von 20 bis 30 Minuten in eine Suspension von Aluminiumchlorid in Chlorbenzol bei der gewünschten Temperatur eingetropft wurde. Durch Nachrühren bei der gleichen Temperatur (beim Arbeiten in der Kälte während ca. einer Stunde, bei erhöhter Temperatur während 10–20 Minuten) läßt sich die Reaktion vervollständigen. Es zeigt sich dabei, daß bei der Bildung der 2,1-Verbindung der Aluminiumchloridkomplex braun bis rotbraun ist, während sich das Auftreten von 2,3-Thioindoxyl durch die tief rotviolette Färbung der Reaktionsmasse zu erkennen gibt. In den Fällen, in denen das gebildete Thio-indoxyl durch Umkristallisation nicht gereinigt werden konnte, wurde dasselbe mit *p*-Nitrosodimethylanilin direkt in das 4'-Dimethylamino-anil (VII) übergeführt und dieses durch Umkristallisieren gereinigt. Aus den Anilen ließen sich durch Verseifen mit 60prozentiger Schwefelsäure die entsprechenden Thio-naphthisatine (VIII) herstellen.



Im weiteren interessierte hier noch das Verhalten der schon erwähnten 1-Chlor-naphthalin-2-thioglykolsäure und der 1-Brom-naphthalin-2-thioglykolsäure[1] unter den zu einem 2,1-Ringschluß führenden Versuchsbedingungen von – 15° C. Während die Chlorverbindung bei dieser Temperatur äußerst langsam in Reaktion trat und in Spuren nur 1-Chlor-2,3-naphth-thio-indoxyl lieferte, konnte bei der Bromverbindung, die schneller reagierte, neben 1-Brom-2,3-naphth-thio-indoxyl auch das unter Abspaltung von Brom gebildete 2,1-Naphth-thio-indoxyl nachgewiesen werden.

Diese Versuche zeigen, daß sich hier zwei Reaktionen nebeneinander abspielen, die durch die verschiedene Temperaturabhängigkeit ihrer Reaktionskonstanten ausgezeichnet sind.

Die Tendenz, den Thioindoxylring nach der 1-Stellung, sogar unter Verdrängung eines Substituenten, zu schließen, lassen erneut die gegenüber der β-Stellung erhöhte Reaktionsfähigkeit der α-Stellung im Naphthalinkern erkennen. Für das unsubstituierte Naphthalin selbst haben erst kürzlich A. und B. Pullmann[2] als Resultat einer quantenmechanischen Behandlung die Elektronenkonzentrationen an jedem C-Atom in Form eines «diagramme moléculaire» angegeben, das die erhöhte Konzentration an π-Elektronen und damit die größere chemische Reaktionsfähigkeit an den α-Stellungen zeigt.

Diese Elektronenverteilung im Naphthalin wird durch Einführung von Substituenten beeinflußt. So wird, wie verschiedene Autoren[3] gezeigt haben, ein α-ständiges, relativ bewegliches Halogenatom, durch weitere Substitution im zweiten Kern mit Halogen-, Nitro-, Methoxy-, Äthoxy- oder Nitrilgruppen noch reaktionsfähiger.

[1] DRP. 403053; Friedländers Fortschr. Teerfarbenfabr. *14*, 930.

[1] DRP. 403053; Friedländers Fortschr. Teerfarbenfabr. *14*, 930.

[2] A. und B. Pullmann, Exper. *2*, 364 (1946).

[3] K. Posthumus, Rec. Trav. chim. Pays-Bas *53* ([4]15), 63 (1934). – G. Hampson, A. Weissberger, Soc. 393 (1936).

Damit ist die Erklärung dafür gegeben, daß die 1-Chlornaphthalin-2-thioglykolsäure wegen der noch ungenügenden Reaktionsfähigkeit des Chlors bei der Ringschlußreaktion bei tiefer Temperatur, im Gegensatz zu den angeführten dichlorierten Verbindungen, nicht nach der 1-Stellung reagieren kann. Hingegen ist die 1-Brom-naphthalin-2-thioglykolsäure wegen der erhöhten Beweglichkeit des Broms[1] fähig, wenigstens zum Teil den 2,1-Ring zu schließen.

Aus den angeführten Gründen wird durch die besondere Reaktionsfähigkeit des Halogens in 1-Stellung die normale Ringschlußreaktion nach der 3-Stellung derart konkurrenziert, daß bei tiefer Temperatur, wohl infolge der fehlenden Aktivierungsenergie für die 3-Stellung, der Ringschluß praktisch ausschließlich zu 2,1-Naphththio-indoxylen führt. Erst bei Zufuhr von weiterer Energie in Form von Wärme geht der Ringschluß normal, d. h. ohne Abspaltung von Halogen, und bei geeigneter Temperatur mit genügend großer Geschwindigkeit, vor sich.

K. Hölzle

Wissenschaftliche Abteilung des Farbendepartements der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 29. Januar 1947.

Summary

It has been found that cyclisation of α-halogenated β-naphthalene-thioglycolic acids can occur in α-position with the elimination of the halogen. The influence of the temperature and of a further substituent (halogen) in the second nucleus are discussed.

[1] K. Posthumus, *l. c.*

Über Ester der Polygalakturonsäure

(19. Mitteilung über Pektinstoffe)

Die *Pektine* der Pflanze sind partielle *Methylester der Polygalakturonsäure* (= Pektinsäure). Es wurden deshalb wiederholt Versuche zur Gewinnung «künstlichen» Pektins aus Pektinsäure durch Veresterung mit Methanol[1] unternommen. Eine völlige Veresterung ohne Abbau der Makromoleküle ist schwierig. – Über die Veresterung der Karboxyle der Pektinsäure mit anderen Alkoholen finden sich keine Angaben in der Literatur.

Es zeigte sich, daß Pektinsäure in Gegenwart von Wasser mit *Epoxyden*[2] (Äthylenoxyd, Glyzid, Epichlorhydrin usw.) unter Esterbildung reagiert. Bei Zimmertemperatur tritt innerhalb weniger Tage vollständige Veresterung ein. Durch Temperaturerhöhung wird die Reaktion beschleunigt, zugleich aber auch die Degradation der Makromoleküle begünstigt. Unter schonenden Bedingungen ist jedoch dieser Abbau nur gering. – Wasserunlösliche, hochpolymere Polygalakturonsäure wird bereits nach partieller Veresterung (z. B. mit Äthylenoxyd zum Glykolester) wasserlöslich. Enthält das Reaktionssystem genügend Wasser, so tritt bereits nach kurzer Einwirkung des Epoxyds Auflösung des Esters ein. Es empfiehlt sich jedoch, in Gegenwart von nur wenig Wasser zu arbeiten, um die Hydrolyse des Epoxyds zum Glykol herabzusetzen. Dann erfolgt die Veresterung im heterogenen System, und die Isolierung und Reinigung des Esters sind bedeutend vereinfacht.

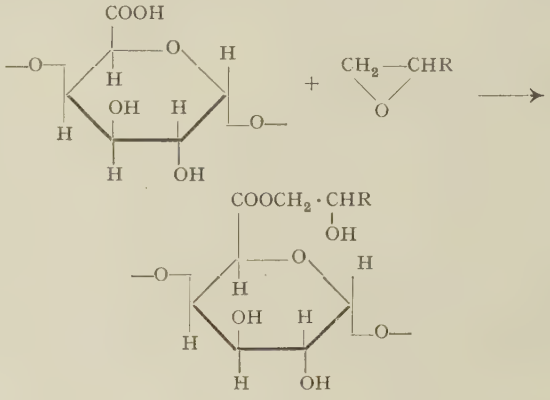


Tabelle I

Veresterung von Polygalakturonsäure mit Äthylenoxyd in Gegenwart verschiedener Mengen Wasser.

Je 0,500 g Polyuronsäure (1,8 Milliäqu.) und 5,0 cm³ Äthylenoxyd. 23 Stunden bei 15° C.

g Wasser	Veresterungsgrad %
0,1 (ca.)	27 (Suspension)
1	88 ,,
3	89 ,,
5	88 (Lösung)
10	83 ,,
15	78 ,,

Die genaue Verfolgung der Veresterung zeigte, daß die Polygalakturonsäure deutlich rascher verestert wird als die monomere *d-Galakturonsäure*.

Die *Elementaranalysen* einer gründlich gereinigten Polygalakturonsäure und ihres Glykolesters stimmten gut mit den berechneten Werten überein. Die bei der *Verseifung des Esters* mit Natronlauge im Überschuß verbrauchte Base entsprach genau der mit Perjodsäure[1] bestimmten Menge an abgespaltenem Glykol.

Je höher die Pektinsäure mit Glykol verestert ist, desto geringer ist die *Elektrolytempfindlichkeit*. – Mit abnehmendem Veresterungsgrad nimmt bei gleichem Polymerisationsgrad die *Viskosität* der wäßrigen Lösungen ab. Die Zähigkeitszahl Z (spezifische Viskosität/m) ist für völlig mit Glykol veresterte Pektinsäure von der Esterkonzentration m (Milliäqu. Ester in 100 cm³ wäßriger Lösung) weitgehend unabhängig.

Tabelle II

Viskosität wäßriger Lösungen eines Glykolesters der Polygalakturonsäure

Veresterungsgrad 100%. 20,00° C. Höppler-Präzisionsviskosimeter

Milliäqu. Ester pro 100 cm³ Lösung (m)	Zähigkeitszahl (Z)
0,26	1,49
0,52	1,37
0,78	1,33
1,04	1,38
1,30	1,35

[1] Buston und Nanji, Biochem. J. *26*, 2090 (1932). – Jansen und Jang, Amer. chem. Soc. *68*, 1475 (1946) etc.

[2] Reaktion mit niedermolekularen Säuren: Bodforss, Samml. chem. techn. Vorträge *26*, 145 (1920). – Brönsted etc., Amer. chem. Soc. *51*, 428 (1929). Mit Karboxylen von Proteinen: Fraenkel-Conrat, J. biol. Chem. *154*, 227 (1944).

[1] Hoepe und Treadwell, Helv. chim. acta *25*, 353 (1942).

Die *alkalische Verseifung* des hochpolymeren Glykolesters ist nicht als Reaktion zweiter Ordnung zu beschreiben. Die «Verseifungskonstante» nimmt wie beim Pektin[1] während der Verseifung sehr stark ab. Dies ist auf eine ansteigende negative Aufladung der Makromoleküle zurückzuführen. – Auch gegenüber *Säuren* zeigt der Glykolester eine ähnliche Stabilität wie der natürliche Methylester.

Wegen des Vorhandenseins primärer Hydroxylgruppen reagiert der Glykolester in Gegenwart von Mineralsäuren bedeutend rascher mit *Formaldehyd*[2] als Pektin. Durch Reaktion mit dem bifunktionellen Formaldehyd kommt es zu Brückenbildungen zwischen den Fadenmolekülen (homöopolare Valenzbindungen). Diese Brükken können beim Glykolester durch verdünntes Alkali bei Zimmertemperatur hydrolysiert werden, da sich die primären Hydroxylgruppen in den esterartig gebundenen Seitenketten befinden. Beim Pektin sind nur sekundäre Hydroxyle vorhanden, die direkt an der Hauptvalenzkette sitzen.

Die Glykol- und Glyzerinester der Polygalakturonsäure werden durch das Enzym *Pektase*, das den natürlichen Methylester zu verseifen vermag, nicht hydrolysiert. Auch Lipasen scheinen diese Ester nicht anzugreifen. – Die *Pektinase*, die die glykosidischen Bindungen der Polygalakturonsäure spaltet, baut den Glykolester ähnlich wie Pektin[3] um so langsamer ab, je höher der Veresterungsgrad ist. Völlig veresterte Polygalakturonsäure wird nicht enzymatisch degradiert.

Tabelle III

Abbau eines Glykolesters der Polygalakturonsäure durch das Enzym Pektinase

Pro 65 cm³ Lösung je 1,31 Milliäqu. Polyuronsäure und 10 mg Pektinasepräparat (Pectasin, USA.). – $p_H = 3{,}9$ (Zitratpuffer). 20° C. 24 Stunden Enzymeinwirkung

Veresterungsgrad %	Abnahme der spezifischen Viskosität durch Pektinase %
100	0,0
95 (ca.)	28,0
85	41,2
70	62,3
54	81,4
0	86,5

Auch *Polyglukuron-* und *Polymannuronsäuren* bilden mit Epoxyden Ester. – Die Untersuchungen werden weitergeführt.

H. Deuel

Agrikulturchemisches Institut der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich, den 4. Februar 1947.

Summary

Polygalacturonic acids (pectic acids) can easily be esterified by epoxides (ethylene oxide, 2,3-epoxy-1-propanol, epichlorhydrin, etc.) in the presence of water. Under favorable conditions the degradation of the macromolecules is negligible. Some properties of the glycol esters of polygalacturonic acid which are similar to those of the methyl esters of polygalacturonic acid (pectinic acids) are described. The glycol and glycerol esters, however, are not saponified by the enzyme pectase. These compounds react much more rapidly with formaldehyde than pectinic acid which does not possess primary hydroxyl groups.

[1] Deuel, Ber. schweiz. bot. Ges. *53*, 219 (1943). – Lineweaver, Amer. chem. Soc. *67*, 1292 (1945).

[2] Untersuchungen am hiesigen Institut über Reaktionen von Formaldehyd mit Pektinstoffen sollen demnächst veröffentlicht werden.

[3] Jansen und Macdonnell, Arch. Biochem. *8*, 97 (1945). – Pallmann, Matus, Deuel und Weber, Rec. Trav. chim. Pays-Bas *65*, 633 (1946).

Über den Wirkungsmechanismus der Katalase

Am hiesigen Laboratorium durchgeführte Versuche[1] zeigten in teilweiser Übereinstimmung mit älteren Befunden[2], daß sowohl Oxydations- als auch Reduktionsmittel imstande sind, die Aktivität von Blutkatalase beträchtlich zu hemmen. Obwohl uns bisher kristallisierte Pferde- oder Rinderleberkatalase aus zeitbedingten Gründen nicht zugänglich waren und wir daher unsere Versuche nicht mit hochgereinigten Präparaten verifizieren konnten, halten wir es doch für unwahrscheinlich, daß die von uns gefundenen spezifischen und gut reproduzierbaren Hemmeffekte auf Verunreinigungen beruhen.

Die beschriebenen Wirkungen lassen sich mit den zurzeit vorherrschenden Vorstellungen über den Wirkungsmechanismus der Katalase[3] sehr schwer vereinen. Nach der Anschauung von Sumner findet bei der Katalasewirkung kein Valenzwechsel statt. Die geschilderten Hemmeffekte lassen sich aber gerade mit der Vorstellung eines Valenzwechsels besonders einfach deuten: Oxydationsmittel würden das Katalaseeisen auf der Ferristufe festhalten, während Reduktionsmittel eine Reoxydation der Ferrokatalase zur Ferristufe verhindern sollten. Diesen Anschauungen wird am ehesten die Formulierung von Keilin und Hartree[4] gerecht, gegen die aber aus verschiedenen Gründen schwerwiegende Einwände gemacht wurden[5].

Die meisten Bedenken ließen sich aber durch die Vorstellung zerstreuen, daß die Ferrokatalase (oder ein Teil ihres Moleküls) ähnlich wie das Hämoglobin imstande sei, ein Molekül Sauerstoff locker gebunden anzulagern. Die Formulierung von Keilin und Hartree wäre dann wie folgt zu modifizieren:

$$2\,Fe^{+++} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{++}(O_2) + Fe^{++} + 2\,H^+$$

$$\underline{Fe^{++}(O_2) + Fe^{++} + 2\,H^+ \rightarrow 2\,Fe^{+++} + H_2O + 1/2\,O_2}$$

$$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \tfrac{1}{2}\,O_2$$

Für den Elementarvorgang ist hier nur die Kombination von zwei Fe^{+++}-Zentren mit einem H_2O_2 nötig, was auch nach einem Vorschlag von L. Ebert[6] als Stufenreaktion (eventuell über Säuredissoziation von H_2O_2):

$$Fe^{+++} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{++}(O_2H) + H^+$$

$$Fe^{++}(O_2H) + Fe^{+++} \rightarrow Fe^{++}(O_2) + Fe^{++} + H^+$$

aufgefaßt werden kann. Damit würde das von Weiss und Malherbe gegen die Auffassung von Keilin und

[1] O. Hoffmann-Ostenhof und E. Biach, Mh. Chem. *76*, 319 (1947); vgl. auch Exper. *3*, 108 (1947).

[2] A. Alexejew und K. Russinowa, Bull. Inst. Rech. biol. Perm *6*, 425 (1928); vgl. auch die Zusammenstellung älterer Befunde bei K. G. Stern, Z. physiol. Chem. *209*, 176 (1932).

[3] J. B. Sumner, Advances in Enzymology *1*, 163 (1941); H. Theorell, Erg. Enzymforsch. *9*, 230 (1943).

[4] Keilin und Hartree, Proc. roy. Soc. (London), Ser. B, *124*, 397 (1938).

[5] J. Weiss und H. Weil-Malherbe, Nature (London) *144*, 866 (1939). – F. J. Johnson und K. L. van Schouwenburg, *ib.* *144*, 634 (1939).

[6] Persönliche Mitteilung.

Hartree geäußerte Bedenken, daß molekulare Zusammenstöße sehr hoher Ordnung notwendig wären, für die neue Modifikation der Formulierung gegenstandslos. Ebenso würde der andere Einwand derselben Autoren, nämlich, daß die Wirkung anaerob autokatalytisch ansteigen müßte, in dem Maße, in dem mehr und mehr Sauerstoff gebildet wird, entkräftet, da ja jedes Molekül Ferrokatalase den zur Inganghaltung der Reaktion notwendigen Sauerstoff molekular gebunden mit sich führen würde.

Es soll hier ausdrücklich betont werden, daß die obige Formulierung, die ja zu einem großen Teil auf den Überlegungen von Keilin und Hartree sowie früherer Autoren beruht, hier nur zur Diskussion gestellt werden soll. Über ihre Richtigkeit werden Untersuchungen mit den verschiedenen für Eisenproteide anwendbaren Methoden, wie spektroskopische und magnetochemische Messungen, entscheiden müssen. Die Deutung derartiger Befunde kann aber durch die Möglichkeit erschwert werden, daß die vier im Katalasemolekül vorhandenen Eisenatome nicht gleichwertig sind und in verschiedener Weise am Reaktionsmechanismus teilnehmen.

Otto Hoffmann-Ostenhof

I. Chemisches Laboratorium der Universität Wien, den 23. Dezember 1946.

Summary

The author proposes a new formulation of the mechanism of action of the enzyme catalase.

Elektrophoretische Differenzierung von Säure- und Labcasein

Es ist bekannt, daß kalziumfreie Präparate von Casein, das durch Säure, und von solchem, das durch Lab aus Milch abgeschieden wurde, mit den gewöhnlichen analytischen Methoden nicht mehr eindeutig differenziert werden können. Kolloidchemisch sind die beiden Caseine jedoch, wie längst bekannt, sehr leicht und absolut eindeutig zu unterscheiden, indem Labcasein aus annähernd neutralen Lösungen durch Kalziumionen in einer bestimmten kleinen Minimalkonzentration nahezu quantitativ ausgefällt wird, während Lösungen von Säurecasein unter gleichen Bedingungen nur etwas trüber werden.

Wir haben nun untersucht, ob Säure- und Labcasein aus Kuhmilch bei der Elektrophorese Unterschiede zeigen. O. Mellander[1] scheint als erster gezeigt zu haben, daß sich Casein bei der elektrophoretischen Wanderung gegen die Anode aufspaltet. Er fand zwei Fraktionen und bezeichnete die schnellere als α-, die langsamere als β-Casein. α-Casein überwiegt mengenmäßig etwa 4:1. R. C. Warner[2] hat diese Ergebnisse bestätigt und in einer ausführlichen Arbeit durch verschiedene neue Beobachtungen erweitert. Es ist ihm auch gelungen, α- und β-Casein präparativ voneinander zu trennen, so daß er sie einzeln elektrophoretisch untersuchen konnte. Beide Autoren arbeiteten nur mit Säurecasein. Elektrophoretische Untersuchungen an Labcasein sind unseres Wissens bisher noch nicht veröffentlicht worden. Als erstes Ergebnis unserer Untersuchung, die fortgesetzt wird, hat sich gezeigt, daß Säure- und Labcasein elektrophoretisch deutlich verschieden sind. Wir fanden, daß bei Natriumlabcaseinatlösungen (p_H 7,3) der α-Gradient auf der Seite der absteigenden Grenzflächen («descending boundaries») nach einiger Zeit in zwei Spitzen aufspaltet, während bei Natriumsäurecaseinatlösungen diese Aufspaltung nicht eintrat. Bei den ersten Versuchen verglichen wir Säure- und Labcaseine, die unabhängig voneinander hergestellt worden waren[1]. Um ganz sicherzustellen, daß die Unterschiede im elektrophoretischen Verhalten wirklich nur auf die Labwirkung und nicht etwa auf Differenzen bei der verwendeten Milch oder auf andere zufällig verschiedene Einflüsse bei der Präparation der Caseine zurückzuführen sind, gingen wir noch folgendermaßen vor:

Unter Verwendung von Veronalnatrium–Salzsäure-Puffer und etwas zusätzlicher Natronlauge wurde eine 6prozentige Säurecaseinatlösung mit p_H 6,6 hergestellt. Die Lösung wurde nun geteilt. Zur einen Hälfte (*a*) wurde filtrierte Lablösung zugesetzt, die durch Erhitzen inaktiviert worden war, zur anderen Hälfte (*b*) wurde die gleiche Menge aktiver Lablösung zugefügt[2]. Beide Lösungen wurden dann 30 Minuten lang auf 35° C erwärmt, wobei das Casein mit aktivem Ferment in Labcasein übergeführt wird, ohne daß die Lösung irgendeine sichtbare Veränderung erleidet. Die eingetretene Labung kann aber leicht durch den Kalziumionentest festgestellt werden. Nun wurden die Lösungen während 3mal 24 Stunden bei 2–4° C gegen Veronalpuffer vom p_H 7,35 dialysiert. Dabei wird, wie wir festgestellt haben, auch das nichterhitzte Lab inaktiviert, sobald das p_H auf 7 gestiegen ist. Nach der Dialyse wurde mit Puffer verdünnt, so daß die Caseinkonzentration noch 1,3% betrug. Das Lösungspaar wurde am gleichen Tag (erst *b*, dann *a*) der Elektrophorese unterworfen. Außer allen Konzentrationen waren natürlich auch die übrigen Bedingungen (Spannung, Stromstärke usw.) genau gleich. Die Diagramme wurden mit einer von der Firma Strübin & Co., Basel, gebauten Apparatur aufgenommen (Abbildungsverfahren nach Philpot-Svensson). Die Apparatur wurde von E. Wiedemann[3] beschrieben.

In der beigegebenen Abbildung sind die Elektrophoresediagramme der beiden Caseinlösungen einander gegenübergestellt.

Im linken Teil der Bilder (absteigende Grenzflächen) erscheinen Säure- und Labcasein praktisch gleich; wir konnten jedenfalls weder bei der Wanderungsgeschwindigkeit noch beim Flächenverhältnis Unterschiede finden, die reproduzierbar außerhalb von der von uns bisher erreichten Fehlergrenze liegen, weitere Messungen vorbehalten. Dagegen erkennt man auf einen Blick den großen Unterschied bei den aufsteigenden Gradienten, nämlich die Aufspaltung beim α-Casein. Wenn auch eine Auswertung der aufsteigenden Gradienten, solange die Puffergradienten nicht eliminiert sind (was hier nicht der Fall ist), nur mit Vorbehalt vorgenommen werden kann[4], so läßt sich doch immerhin feststellen, daß das Mengenverhältnis von α_1 zu α_2 beim Labcasein etwa 0,9:1 beträgt. Die elektrophoretische Beweglichkeit von

[1] O. Mellander, Bioch. Z. *300*, 240 (1939); Nature *155*, 604 (1945).

[2] R. C. Warner, J. Amer. chem. Soc. *66*, 1725 (1944).

[1] Die Präparation wurde von H. Gerber[5] beschrieben.

[2] Das verwendete Lab war Marke «Rubaco» (1:100000) der Firma Rud. Baumgartner in Bern. Die zugesetzte Menge betrug 5 mg trockenes Labpulver pro Gramm Casein. Da der Proteingehalt dieses Labpräparates weniger als 4% beträgt, machte er in der Mischung höchstens 0,02% vom Casein aus und konnte somit im Elektrophoresediagramm selbst nicht in Erscheinung treten. Es wurde auch festgestellt, daß es mindestens über dem isoelektrischen Punkt des Caseins keine proteolytische Wirkung hat.

[3] E. Wiedemann, Schweiz. med. Wschr. *76*, 241 (1946).

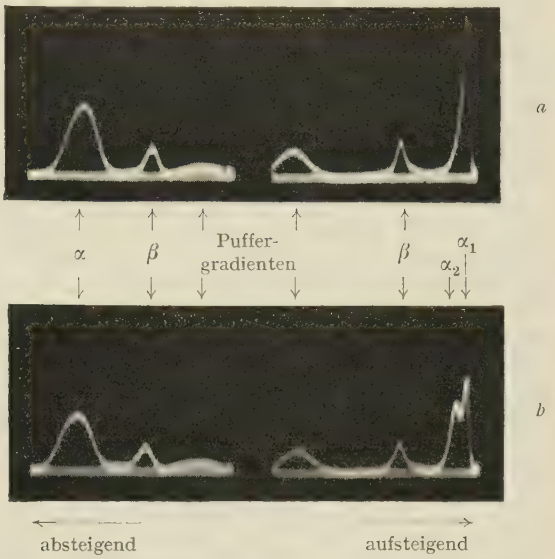
[4] E. Wiedemann, Helv. chim. acta *30*, 168 (1947).

[5] H. Gerber, Untersuchungen über Lab- und Säurecasein. Diss. Bern (1945).

α_1-Labcasein liegt etwas höher, diejenige von α_2-Labcasein etwas tiefer als die des einheitlich erscheinenden α-Säurecaseins. Die Werte sind:

Säurecasein α: $9{,}30 \cdot 10^{-5}$
Labcasein α_1: $9{,}55 \cdot 10^{-5}$
Labcasein α_2: $8{,}83 \cdot 10^{-5}$.

Der elektrophoretische Vergleich der beiden Caseine wurde einige Male mit frischen Lösungen wiederholt und jedesmal zeigte nur das gelabte Casein diese Aufspaltung des aufsteigenden α-Gradienten. In einem Falle hatten



Elektrophoresediagramme von: *a* Säurecasein, *b* Labcasein. 1,3 % in Veronalnatrium-Natriumazetat-Salzsäure-Puffer, p_H 7,35, Ionenstärke 0,077, Spannung 4,45 V/cm, Temperatur 2° C, Aufnahmen nach 8100 Sek.

wir das Lab nur genau eine Viertelstunde bei 35° C einwirken lassen, indem wir die Enzymwirkung nach dieser Zeit durch Alkalizugabe momentan unterbanden (p_H-Steigerung von 6,7 auf 7,4). Dazu benützten wir Puffer, in dem etwas festes Natriumhydroxyd gelöst worden war. Wir verzichteten auf die übliche Dialyse; die Elektrophorese wurde vielmehr sofort vorgenommen, um eventuell nicht inaktivierten Begleitfermenten des Labs möglichst wenig Zeit zur Wirkung zu lassen. Die viertelstündige Behandlung mit Lab genügt aber vollauf, um aus dem Säurecasein ein in bezug auf den Kalziumionentest vollwertiges Labcasein zu machen. Tatsächlich fanden wir auch in diesem Falle den Effekt voll ausgebildet, und das Mengenverhältnis α_1 zu α_2 war annähernd dasselbe wie beim zuvor beschriebenen Versuch.

Auch in Phosphatpuffer vom selben p_H konnten wir die Aufspaltung des α-Gradienten beobachten, wenn auch die Separierung von α_1 und α_2 hier weniger gut ist.

Von dem Versuche einer Deutung des beobachteten Effektes sehen wir ab; zuvor muß die Untersuchung weitergetrieben werden. Nur auf eines möge hingewiesen werden. Es will nach Obigem plausibel erscheinen, daß sich die eigentliche enzymatische Reaktion bei der Labung am α-Casein abspielt. Es könnte jedoch auch anders sein. Hier muß darauf hingewiesen werden, daß Warner (*l. c.*) unter gewissen Bedingungen bei Säurecasein eine Aufspaltung des aufsteigenden α-Gradienten beobachtet hat, aber nur in Veronalpuffer und bei Caseinkonzentrationen von nicht über 1 %. Allerdings ist aus seinen Aufnahmen zu entnehmen, daß das Mengenverhältnis α_1 zu α_2 viel größer war (rund 4). Es ergibt sich aber hieraus auf alle Fälle, daß schon im Säure-α-casein die Tendenz zur Aufspaltung in zwei Fraktionen vorhanden ist, und daß das Lab diese Aufspaltung vielleicht nur begünstigt. Dabei ist auch die Möglichkeit in Erwägung zu ziehen, daß das Lab nicht direkt auf das α-Casein, sondern auf irgendeine andere, mengenmäßig vielleicht sehr unbedeutende Caseinfraktion einwirkt, die nachher ihrerseits wieder die Assoziationsverhältnisse zwischen α_1 und α_2 beeinflußt[1].

Wir danken der Stiftung zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung an der bernischen Hochschule, die einer Gruppe von Dozenten die Anschaffung der Elektrophoreseapparatur ermöglicht hat, sowie Herrn Prof. Dr. A. von Muralt, Direktor des Berner Physiologischen Instituts, bei welchem die Elektrophoreseapparatur aufgestellt ist, für gewährte Unterstützung bei unserer Arbeit.

Hs. Nitschmann und W. Lehmann

Institut für organische Chemie der Universität Bern, den 6. März 1947.

Summary

The electrophoretic patterns of normal casein (precipitated with acid from cow's milk) and of rennet-casein obtained in a veronal buffer at a p_H of 7·3 are remarkably different from each other. The ascending boundary of the α-fraction of casein treated with rennet splits off into two peaks showing the presence of two subfractions (α_1 and α_2). The proportion of quantity of the faster (α_1) and of the slower (α_2) subfraction was found to be about 0·9:1. The α-component of casein which was not treated with active rennet behaved under the same conditions electrophoretically uniform.

[1] Daß das Casein neben α und β weitere kleine, elektrophoretisch differenzierte Fraktionen enthält, hat Warner gezeigt und konnte von uns im wesentlichen bestätigt werden.

The Influence of Salts on the Inhibition of the Respiration of Baker's Yeast by Basic Dyes

In a preceding paper[1] we have stated that the respiration of baker's yeast in a glucose-phosphate medium is inhibited by three types of basic dyes: the acridine compounds (f. i. trypaflavine), the thiazines (f. i. methylene blue), the triphenylmethane compounds (f. i. crystal violet) and that this inhibition is at least partially reversed by nucleic acid, adenylic acid and adenosin triphosphoric acid. We have found now that different salts offer a very good protection against the inhibitory activity of basic dyes on the respiration of baker's yeast. It is well understood that this protection is not due to a salting out of the dyes. In this preliminary communication we shall limit our observations to experiments with $MgCl_2$. The observed effects vary somewhat with the strength of respiration of the yeasts. The related results were obtained with strongly respiring baker's yeasts of the Belgian firms "Lion d'Or-Alost" and "Levure Royale-Bruges".

Inhibition by trypaflavine: At 28° C in phosphate buffer p_H 5,9 and in the presence of glucose (1 %), trypaflavine $5 \cdot 10^{-4}$ M (when one admits that trypaflavine is pure 3·6 diamino 10 methylacridinium, see

[1] L. Massart, G. Peeters, J. de Ley and R. Vercauteren Exper. *3*, 119 (1947).

however [1] and [2]) causes an inhibition of about 40 to 60 % depending on the yeast examined. This inhibition disappears at least up to 50 % in the presence of $MgCl_2$ 10^{-2}M. We give here some examples of our results on different samples of baker's yeast.

mm³ O_2 per hour		
Without Trypaflavine	Trypaflavine $5 \cdot 10^{-4}$ M	Trypaflavine $5 \cdot 10^{-4}$ M, $MgCl_2$ 10^{-2} M
264	152	270
250	164	246

$MgCl_2$ alone has no influence on the respiration of baker's yeast. The inhibition by other acridines such as 5-aminoacridine and 1-methyl-5-aminoacridine is also reversed by $MgCl_2$.

Inhibition by methylene blue and crystal violet: Under the same conditions as for trypaflavine, $MgCl_2$ offers also a protection against the inhibitory activity of methylene blue and crystal violet. It is however important to state that the protection against crystal violet is not so effective as for methylene blue and trypaflavine.

So far, we were not able to prove that salts offer also a protection against the bacteriostatic action of basic dyes. All the experiments stated above concern only the inhibition of respiration, which occurs at concentrations higher than those necessary to stop growth of yeast.

We have observed that the same facts apply when alcohol is used as substrate instead of glucose, and that once the inhibition is established it is not reversed by $MgCl_2$.

We have proved also that there is a correlation between this protective action and the fact that living yeast cells are notably less colored by trypaflavine in the presence of salts than in their absence.

A systematic investigation on the role of salts is run at this moment and full details will be published elsewhere.

This research was aided by a grant of the Ella Sachs Plotz Foundation.

L. Massart, G. Peeters, J. de Ley, and R. Vercauteren

Biochemical Laboratory and Pharmacological Laboratory of the Veterinary College, University of Ghent, March 11, 1947.

Résumé

$MgCl_2$ et d'autres sels à des concentrations définies protègent la respiration de la levure de boulangerie contre l'action inhibitrice de colorants basiques.

[1] Gaillot, Quart. J. Pharmacy and Pharmacology *7*, 63 (1934).
[2] H. Berry, Quart. J. Pharmacy and Pharmacology *14*, 143 (1941).

On the Existence of Intermediate Compounds between Hemoglobin (wholly ferrous) and Methemoglobin (wholly ferric)

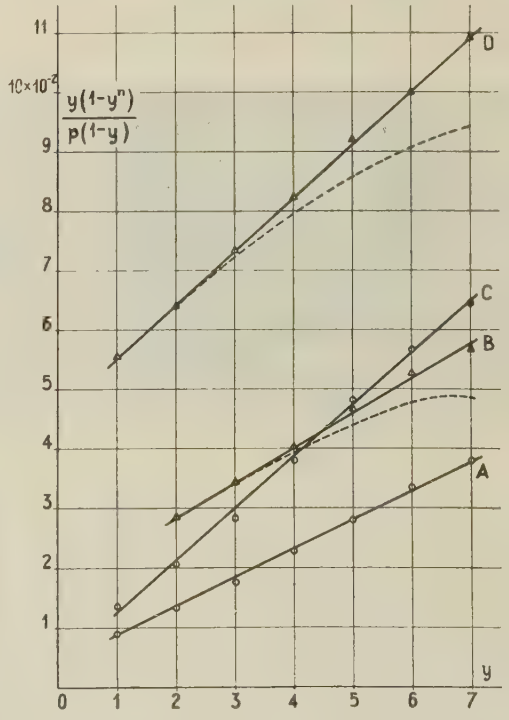
In 1942 Darling and Roughton[1] in order to explain the shift to the left and the change of the shape of the oxygen dissociation curves in mixtures of methemoglobin and ordinary hemoglobin, proposed the interesting hypothesis of the existence of intermediate compounds between hemoglobin (wholly ferrous) and methemoglobin (wholly ferric). These compounds should contain ferrous and ferric iron atoms in the same molecule. If this hypothesis is correct, the n number of ferrous atoms which are able to bind oxygen in a reversible way at varying oxygen pressures, should decrease from 4 per molecule to lower values, and the new value of n should appear from a mathematical evaluation of the experimental data by means of the stoichiometric equation which has recently been proposed by one of the writers[1]. We have submitted to this control the data from the figures 1 and 2 of Darling and Roughton's work (page 59).

We remind that the stoichiometric equation, which determines the n number of intermediate stages of the reaction of a protein P with a substance A, is the following

$$\frac{y\,(1-y^n)}{p\,(1-y)} = \frac{1}{c\,p_m} + \frac{c-1}{c\,p_m}\,y$$

where y is the degree of saturation of P with A (from zero to unity); p is the active concentration of A (in the present case the oxygen pressure is used, being a proportional magnitude) and c and p_m are constants whose meanings will be found in the original article.

The following tracings are reproduced in figure 1, worked out, as already explained, on the data of Darling and Roughton: A, for $n = 4$ from the oxygen dissociation curve of an ox hemoglobin solution in the



absence of methemoglobin; B, for $n = 4$ (continuous line) and $n = 3$ (dotted line) of the same solution in the presence of methemoglobin amounting to 60 % of the total pigment; C, for $n = 4$ of a human hemoglobin solution; D, for $n = 4$ (continuous line) and $n = 3$ (dotted line) of the same solution in the presence of methemoglobin amounting to 54 % of the total pigment.

[1] R. C. Darling and F. J. W. Roughton, Amer. J. Physiol. *137*, 56 (1942).

[1] E. Boeri, Enzymol. *12*, nr 2 (1947).

The concavity downwards of the curves for $n = 3$ means that $n > 3$, and the straight line for $n = 4$ means that $n = 4$.

The present considerations do not support therefore the hypothesis of Darling and Roughton and point out that in this case (hemoglobin plus methemoglobin by ferricyanide) only wholly ferrous and wholly ferric molecules are present in the solution.

Enzo Boeri and Alessandro Vescia

Physiological and Biochemical Laboratories, University of Naples, January 25, 1947.

Zusammenfassung

Experimentelle Befunde von Darling und Roughton wurden mathematisch mittels der stöchiometrischen Gleichung analysiert. Entgegen der Meinung jener Versuche sind der vorgenannten Gleichung nach in einer Lösung von Hämoglobin plus Methämoglobin (durch Ferrizyanid) nur Moleküle anwesend, deren vier Eisenatome alle in dem Ferro- bzw. in dem Ferrizustand sind.

Beeinflussung der Antennendifferenzierung durch Colchicin bei der *Drosophila*mutante *Aristopedia*[1]

Nachdem nähere Untersuchungen (Vogt[2]) ergeben hatten, daß bei der *Drosophila*mutante *Aristopedia* (ss^a) die Fühler-Imaginalscheibe während des letzten Larvenstadiums lediglich ein im Vergleich zur Wildform *verstärktes Wachstum* der *Aristenanlage* aufweist, schien die Frage von Interesse, ob seinerseits eine *künstliche* Wachstums*hemmung* der Aristenanlage von ss^a die Entwicklung einer Arista anstelle eines Antennenfußes zur Folge haben würde. Eine solche Möglichkeit erschien um so wahrscheinlicher, als bei der gleichzeitig zu Antennenmehrbildungen führenden Genkombination *scute-echinus-cut / Deformed-recessive-Lüers* (*sc ec ct / Dfd^r-Lss^a*) sowie der Genkombination *Antennaless / Aristopedia* (*Ant / ss^a*) wiederholt das Auftreten einer kleinen Arista in allen den Fällen beobachtet wurde, in denen sich das (im ersteren Fall überzählige) dritte Antennenglied durch eine besondere *Kleinheit* auszeichnete (Fig. 1 und 2).

Zur Erzielung einer künstlichen Wachstumshemmung der Aristenanlage wurden Augen-Antennen-Imaginalscheiben von 44–48 Stunden alten *Aristopedia*larven für die Dauer von 30 Minuten in Colchicinlösungen verschiedener Konzentrationen übergeführt und anschließend in die Leibeshöhle gleich alter Larven verpflanzt. Tabelle I bringt die Ergebnisse. Während alle Imaginalscheiben, die 30 Minuten in 0,75% Kochsalzlösung (Kontrollserie) bzw. in unwirksamen Colchicinkonzentrationen (an der Ausbildung eines normal großen Auges erkennbar) gehalten worden waren, fast ausnahmslos zwei ausgebildete Krallen (Fig. 3*a*) oder zumindest deutliche Tarsalglieder ohne Anzeichen einer Arista aufwiesen, zeigten die Fälle, in denen die Toxizität der Colchicinlösung nicht zu einer völligen Degeneration des Implantats geführt hatte, alle Übergänge zwischen einer eben angedeuteten Aristenspitze (Fig. 3*b*) und

Tabelle I

Einfluß verschiedener Colchicinkonzentrationen auf die Differenzierung der ss^a-Antennenanlage

Konzentration der angewandten Colchicinlösung	Differenzierung der Implantate						
	Krallen	Tarsalglieder ohne Krallen	Aristenspitze	kurze Arista	lange Arista	Degeneration	n
$1:10^4$						11	11
$1:2\cdot10^4$						7	7
$1:5\cdot10^4$	1			6	1	36	44
$1:8\cdot10^4$				2		30	32
$1:10^5$			2	1	1	34	38
$1:2\cdot10^5$	5	5				10	20
Kontrollserie	83	6	—	—	—	—	89

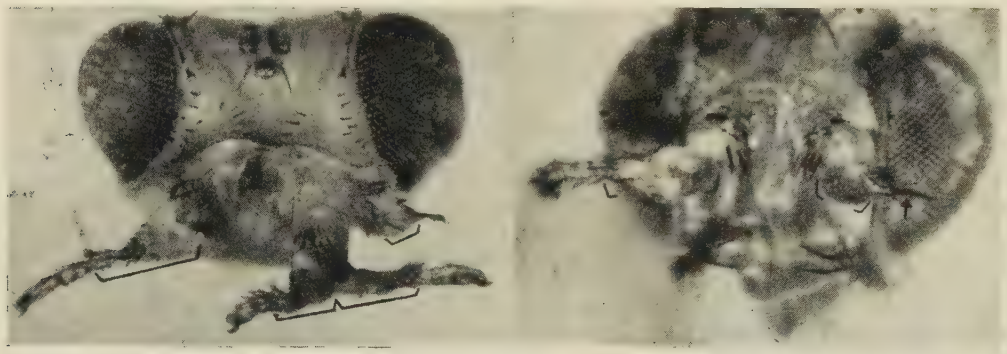


Fig. 1. Kopf einer *sc ec ct / Dfd^r-Lss^a*-Fliege. Pfeil: Arista. Klammern: Grenzen des dritten Antennengliedes. 63/1.

Fig. 2. Kopf einer *Ant / ss^a*-Fliege. Zeichen, siehe Fig. 1. 63/1.

a *b* *c* *d* *e* *f*

Fig. 3. Antennenimplantate der Mutante ss^a, in *a* aus der Kontrollserie: Krallenbildung, in *b*—*f* nach Colchicinbehandlung: verschiedene Stufen einer Aristenbildung. 86/1.

[1] Die *Drosophila*mutante *Aristopedia* unterscheidet sich von der Wildform durch die Umwandlung der Fühlergeißel (= Arista) in einen Fuß.

[2] M. Vogt, Exper. *2*, 313 (1946); Biol. Zbl. (im Druck).

einer normal ausgebildeten Arista (Fig. 3*e* und *f*). Es läßt sich somit die *Differenzierung* innerhalb einer *Aristopedia*antennenscheibe *künstlich* durch ein *Mitosegift* im Sinne einer *Aristenbildung ablenken.*

Daß bei *Drosophila* enge Beziehungen zwischen den innerhalb der Imaginalscheiben sich abspielenden Wachstumsprozessen und der später eingeschlagenen Differenzierungsrichtung bestehen, wurde in den letzten Jahren schon von WADDINGTON[1] und VILLEE[2] auf Grund ihrer neuen Befunde angenommen. Obige Daten bringen eine weitere Stütze für die Richtigkeit dieser Auffassung.

Die Tatsache, daß eine *unspezifische Wachstumshemmung* der Antennenanlage die Differenzierungsrichtung der letzteren zu beeinflußen vermag, läßt ihrerseits die Frage aufkommen, ob nicht auch die *Wirkung* des *ss*^{a}-Gens selbst in einer *unspezifischen Wachstumsbeschleunigung* der *Aristenanlage* besteht. Als Stütze für diese Denkmöglichkeit, die vorwiegend von GOLDSCHMIDT[3] vertreten wird, könnte der obige Befund herangezogen werden.

MARGUERITE VOGT

Hirnforschungsinstitut Neustadt (Schwarzwald), den 14. Februar 1947.

Summary

A decrease in growth rate of the antennal bud by means of colchicine deflects the differentiation of the *Aristopedia* antenna towards an arista.

[1] C. H. WADDINGTON, Nature *149* (1942); J. exper. Biol. *19* (1942).
[2] CLAUDE A. VILLEE, J. Morph. *77* (1945); Genetics *31* (1946).
[3] R. GOLDSCHMIDT, Physiological Genetics. New York and London 1938.

Die mit Hilfe der Beringungsmethode erzielten Ergebnisse über Lebensdauer und jährliche Verlustziffern bei *Myotis myotis* Borkh.

Die geringe Vermehrungsziffer bei Chiropteren läßt auf eine relativ lange Lebensdauer schließen. Diese Annahme wird durch die jetzt vorliegenden, mit Hilfe der Beringungsmethode gemachten Feststellungen durchaus bestätigt. Als Untersuchungsobjekt diente das Mausohr, *Myotis myotis*, eine Fledermausart, die in der Umgebung von Berlin häufig überwintert und die in großer Anzahl seit Jahren beringt wurde.

Durch jährliche Kontrollen der Winterquartiere, die diese sehr ortstreuen Tiere mit großer Regelmäßigkeit wieder aufzusuchen pflegen, konnte die von Jahr zu Jahr fortschreitende Abnahme der Beringten verfolgt werden. Von 662 im Winter 1932/33 markierten Mausohren wurden die letzten 2 Exemplare im Winter 1943/44 noch einmal wiedergefunden. Da diese spätestens 1932 geboren sein müssen und mindestens noch bis zum Frühsommer 1944 gelebt haben dürften, hätten sie demnach ein Alter von 12 Jahren erreicht. Noch bei 5 weiteren Mausohren konnte bisher ein gleiches Höchstalter festgestellt werden. *So können wir also sagen, daß M. myotis ein Höchstalter von mindestens 12 Jahren erreichen kann.*

Die Kontrollen ergaben ferner, daß in jedem Jahr mit auffallender Regelmäßigkeit durchschnittlich noch etwa 60% der Vorjahrstiere vorhanden waren. *Demnach würde die Jahresverlustziffer – unter den in der hiesigen Gegend herrschenden Lebensbedingungen – etwa 40% betragen.* Die Verteilung der Verluste auf die einzelnen Altersklassen läßt sich zunächst noch nicht übersehen, da ja bei Vornahme der Beringung das Alter jedes einzelnen Tieres nicht bekannt ist.

Dagegen konnten unterschiedliche Verlustzahlen der Geschlechter in den Kontrolljahren festgestellt werden. Das Geschlechtsverhältnis unberingter Tiere in den Winterquartieren kann in den einzelnen Jahren an den verschiedenen Örtlichkeiten und vielleicht auch auf Grund bisher noch unbekannter Faktoren gewisse Schwankungen aufweisen, doch ist es im allgemeinen bei Zugrundelegung eines großen Zahlenmaterials mehr oder weniger gleich (50:50) oder läßt nur ein geringes Überwiegen eines Geschlechtes (z. B. 53,6 ♂♂:46,4 ♀♀) erkennen.

Ein ganz anderes Bild ergibt sich nun bei Betrachtung des in folgender Tabelle eingetragenen Kontrollergebnisses der beringten Mausohren in den ersten Kontrollwintern.

Ausgangszahl im Beringungswinter	Verhältnis der Geschlechter (♂:♀) bei den Wiederfunden in den einzelnen Kontrollwintern (KW) in %			
	1. KW	2. KW	3. KW	4. KW
4890	58:42	59,7:40,3	64,7:35,3	64,5:35,5
	5. KW	6. KW	7. KW	8. KW
	65,9:31,1	61,5:38,5	50,8:49,2	47,4:52,6
	9. KW	10. KW	11. KW	
	44,4:55,6	50:50	50:50	

Wenn auch das Geschlechtsverhältnis zu Beginn der Beobachtungen nicht bekannt ist – bei Vornahme von Massenberingung wurde das Geschlecht nicht notiert – und nur auf Grund der sonstigen Erfahrungen auf ein annähernd gleiches Verhältnis von Männchen und Weibchen geschlossen werden kann, tritt eine Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses zugunsten der Männchen in den ersten Kontrollwintern sehr deutlich in Erscheinung. Vom sechsten Kontrollwinter an nimmt die Sterblichkeit der Weibchen wieder ab bzw. die der Männchen zu. Da in den letzten Kontrollwintern die Anzahl der noch vorhandenen Tiere naturgemäß immer kleiner wird, sind die erhaltenen Vergleichszahlen nur unter Vorbehalt zu benutzen und können zunächst noch nicht ausgewertet werden.

Jedenfalls zeigen die Beobachtungen ganz einwandfrei, daß in den ersten Jahren *die Sterblichkeit der Weibchen bedeutend höher als die der Männchen ist,* wobei man annehmen kann, daß es sich zu einem hohen Prozentsatz um jüngere Tiere handelt.

Eine Bestätigung dieser Erscheinung geben uns die Rückmeldungen, die von verendet gefundenen Tieren außerhalb der Winterschlafzeit einliefen. Unter 62 gemeldeten Tieren befanden sich 20 Männchen und 42 Weibchen (= 32,3:67,7). Die verlustreichsten Monate waren März, April und Mai; es sind dies die Frühjahrsmonate, die infolge plötzlichen Witterungsumschlages für die aus dem Winterquartier ausgeflogenen Fledermäuse besonders gefährlich werden können. Ferner zeigen die Rückmeldungen, daß in den Monaten Mai und Juni die Verluste bei den Weibchen besonders hoch

gegenüber denen der Männchen sind. In diese Monate fällt die Embryonalentwicklung und die Geburt der Jungen. Es ist anzunehmen, daß die Weibchen während dieser Zeit sowohl infolge ihres körperbehinderten Zustandes wie auch infolge ihres oft auffälligen geselligen Beisammenseins in den Wochenstuben größeren Gefahren ausgesetzt sind als die Männchen, womit die oben gemachte Feststellung von der höheren Verlustziffer im weiblichen Geschlecht seine Erklärung finden würde.

M. Eisentraut

Zoologisches Museum Berlin, den 28. Februar 1947.

Summary

(1) The greatest age of *Myotis myotis* hitherto ascertained by means of the marking method, is 12 years.

(2) The annual loss, observed with striking regularity, amounts to 40%.

(3) It is remarkable that in the first years of control the number of losses of females is far higher than that of males. This observation coincides with the ascertained fact that the reported number of females found dead is nearly double the corresponding number of males.

(4) According to the notifications of dead animals found the months most rich losses are May and June. Evidently the females are particularly exposed to peril by the development of the embryo which takes place at that time, and by the breeding of their young ones.

The mechanism of movement of the gill-filaments in Teleostei

Our knowledge of the structure of the gills and of the way, in which the gill-elements function in Teleostei, is mostly of older date and has not yet been adapted to the results of the recent physiological investigations of the respiration of these fishes.

It is a well-known fact, that every gill-bar bears a double row of filaments (gill-plates of the first order), the two hemibranchiæ. The filaments of both hemibranchiæ of a gill alternate with each other. Every filament ist supported by a piece of skeleton, the gill-rod, which is connected with the visceral arch. The filaments are movable through the action of small muscles in the sense of an adduction of the filament-tips of the two hemibranchiæ, which belong to one gill. The exchange of carbonic acid and of oxygen takes place in the blood-lacunæ of the thin lamellæ (gill-plates of the second order), which are placed on both sides of the filaments, nearly perpendicular to the surface.

The small muscles, which move the filaments, are described as adductor muscles. They really act as adducting powers for the filament-tips of the two hemibranchiæ of a gill. Several authors (Riess[1], Woskoboinikoff[2], Elfriede Schöttle[3]) ascribe to these adduction movements of the filament-rows of a gill a significance for the renewal of the water during breathing and for the propulsion of the blood through the vessels of the gill-filaments. Elfriede Schöttle[3] (1932, p.10) even speaks of fanning movements (fächelnde Bewegungen) of the gill-filaments in the *Gobiiformes*, to which the action of these adductor muscles should contribute. According to Riess the blood of the arteria branchialis should be pushed by the heart-power only as far as the branches of the filaments. By a successive contraction and relaxation of the adductor muscles the afferent vessels for the filaments should be closed and opened alternately, which would cause the current of the blood through the filaments. It is evident, that these authors start from the supposition, that the adductor muscles have a rhythmical action, in which contraction and relaxation follow each other continuously.

When we have a look at the figures of a horizontal section of the branchial region in a Teleost in the different textbooks of zoology and comparative anatomy (Gegenbaur[1], p. 226; Boas[2], p. 511; Hertwig[3], p. 526; Claus-Grobben-Kühn[4], p. 919; Neal and Rand[5], p. 247; Parker and Haswell[6], p. 86) we always see a wide aperture between the filament-tips of the posterior hemibranchia of one gill and the anterior one of its immediate successor in the schemes (fig. 1*a*). As early as 1932 Woskoboinikoff[7] concluded that in living Teleostei the filaments of two successive branchial arches shut off the slits between these arches. Only in this way there is a maximum of contact between the respiratory water and the blood in the lamellæ; the respiratory water is now forced to pass only through the small slits between the lamellæ (fig. 1*b*). If there

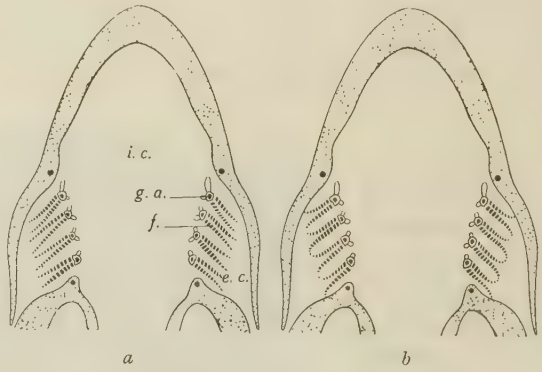


Fig. 1. Schematic diagram of a horizontal section of the head of an osseous fish. *a* Wrong reproduction of the position of the filaments during quiet respiration (after Boas, 1922). *b* Correct reproduction of the position of the filaments during quiet respiration.

g. a. gill-arch. *f.* filament with lamellæ. *i. c.* inspiratory cavity. *e. c.* expiratory cavity.

should be a wide aperture between the filament-tips, the greater part of the respiratory water would flow away without having passed the lamellæ. Under these conditions the difference in quantity of oxygen of the water before and after passing the gills (the utilization of the oxygen) should be low. On the contrary van Dam[8]

[1] A. Riess, Der Bau der Kiemenblätter bei den Knochenfischen. Arch. Naturgesch., 47. Jg., *1* (1881).

[2] M. W. Woskoboinikoff, Apparat der Kiemenatmung der Fische. Zool. Jb., Abt. Anat. Ontog. *55* (1932).

[3] Schöttle, Elfriede, Morphologie und Physiologie der Atmung bei Wasser-, Schlamm- und landlebenden *Gobiiformes*. Z. wiss. Zool. *140* (1932).

[1] C. Gegenbaur, Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere mit Berücksichtigung der Wirbellosen, 2. Bd., 1901.

[2] J. E. Boas, Lehrbuch der Zoologie, 9. Auflage, 1922.

[3] R. Hertwig, Lehrbuch der Zoologie, 15. Auflage, 1931.

[4] Claus, Grobben und Kühn, Lehrbuch der Zoologie, 10. Auflage, 1932.

[5] H. V. Neal and H. W. Rand, Chordate Anatomy, 1939.

[6] Parker and Haswell, A Textbook of Zoology, 6th édition, 1943.

[7] M. W. Woskoboinikoff, Apparat der Kiemenatmung der Fische. Zool. Jb., Abt. Anat. Ontog. *55* (1932).

[8] L. v. Dam, On the utilisation of oxygen and regulation of breathing in some aquatic animals. Diss., Groningen 1938.

found in the eel and the trout a utilization of 80 %; and according to HAZELHOFF[1] this value amounts to an average of 62 % in some other Teleostei. Without knowing WOSKOBOINIKOFF's publication, VAN DAM[2] concluded in the same way from the value of the utilization of the oxygen, that the wall separating the inspiratory and the expiratory cavity must be a wall without big slits.

In perfect agreement with these conclusions are the results of experiments on *Tinca tinca*, carried out by Mrs HOFDIJK-ENKLAAR (Zoological Laboratory of the University of Groningen; not published). By looking under the gill-cover in the phase of expiration it is possible to watch the position of the filament-tips. Mrs HOFDIJK-ENKLAAR found, that in this phase of the respiration the filament-tips of one hemibranchia and those of the successive one of a following branchial arch lean against each other. As in the inspiratory phase the gill-cover lies close to the body, it is not possible to observe the filaments during this phase of breathing. It was necessary to make a small circular opening in the gill-cover in order to observe the filament-tips during both phases of breathing. A bit of transparent celluloid was inserted in the little circular hole to prevent, that the pressure relations in the expiratory cavity should change. Mrs HOFDIJK-ENKLAAR could observe that in quiet respiration the filament-tips of one hemibranchia and those of the successive one of the next gill touch each other during inspiration as well as during expiration.

It was also noticed, that in apparently clean water a normally breathing fish opens the gill-clefts at regular intervals, e.g. 8 times to 50 breathing movements. It makes so-called coughing movements. If small fragments of defilement (small filaments of filtering paper, a large quantity of detritus, etc.) are added to the water, these coughing movements become more frequent. In his investigations concerning the respiration of the Teleostei KUIPER[3] observed these abnormal respiratory movements which he rightly interpreted as coughing movements. In his detailed study (1907) he accurately describes the sequence of opening and closing of mouth and gill-cover during the coughing movements.

Mrs HOFDIJK-ENKLAAR could observe through the celluloid window of the gill-cover, that during the coughing movements the gill-clefts open for a moment by the adduction of the filament-tips of the hemibranchiæ belonging to one gill. Inspired particles are coughed out either in a forward or in a backward direction. In both cases a strong current of water is produced, which cleans the gills. The filaments, bridging the gill-clefts, part from each other.

In the same way mechanical stimulation of the mucous membrane of the inspiratory cavity as well as of the expiratory one causes the opening of the gill-clefts.

Afterwards I found, that exactly the same adduction-movements could be called forth in stimulating the filaments of a freshly decapitated fish with an electric current. In such a test-object the position of the filaments is still the same as in the living animal. It was even possible to study the movements of the filaments in a transversely cut gill. In this manner a better insight could be obtained in these movements. As soon as we bring a just decapitated fish in a fixation-liquid, the wide clefts between the successive gills appear. It is evident, that the figures in the different textbooks are derived from dead and fixed material. In the living and normally breathing animal the gill-clefts are bridged by the filaments (fig. 2).

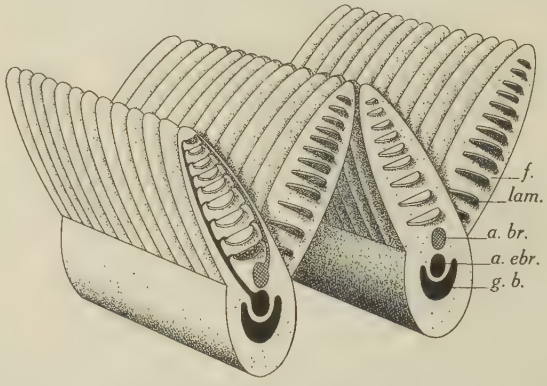


Fig. 2. Schematic diagram of the position of the filaments and the lamellæ in the living animal showing the blood-circulation in the filament.

f. filament. *lam.* lamella. *g. b.* gill-bar. *a. br.* arteria branchialis. *a. ebr.* arteria epibranchialis.

As we study the coughing movements in the above mentioned way, it appears, that the opening of the gill-clefts during these movements occurs actively, that is to say by the action of the adductor muscles. We found two types of adductor muscles (fig. 3 and 4). The muscles of the two types act in a different way. A muscle of the first type, as it is found e.g. in *Esox lucius* moves the hole filament. The filament pivots in the syndesmosis between gill-rod and gill-bar (fig. 3).

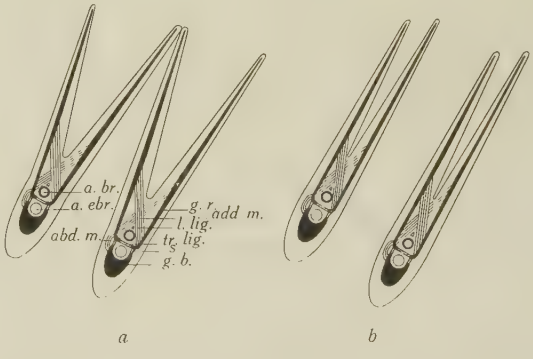


Fig. 3. Schematic diagram of a section through two successive gills with adductor muscles of the first type: *a* during quiet respiration; *b* during the coughing movements.

g. b. gill-bar. *g. r.* gill-rod. *s.* syndesmosis between gill-rod and gill-bar. *tr. lig.* transverse ligament between the bases of the gill-rods. *l. lig.* longitudinal ligament. *a. br.* arteria branchialis. *a. ebr.* arteria epibranchialis. *add. m.* adductor muscle. *abd. m.* so-called abductor muscle.

A muscle of the second type however, as it is met with in *Tinca tinca* e.g., only straightens the slightly curved endings of the filaments (fig. 4). In both cases however the filament-tips of the two hemibranchiæ of a gill approach each other, and the gill-clefts open. The

[1] E. H. HAZELHOFF, Über die Ausnützung des Sauerstoffs bei verschiedenen Wassertieren. Z. vergl. Physiol. *26*, 3. Heft (1938).

[2] L. v. DAM, On the utilisation of oxygen and regulation of breathing in some aquatic animals. Diss., Groningen 1938.

[3] T. KUIPER, Sul mecanismo respiratorio dei pesci ossei. Rend. d. R. Acc. dei Lincei, I. sem., Serie 5a, *15*, fasc. 7.° (1906); Sur le méchanisme respiratoire des poissons osseux. Arch. ital. de Biol. *45*, fasc. 3 (1906); Untersuchungen über die Atmung der Teleostier. Arch. ges. Physiol. *117* (1907).

filaments are brought back again in their original position by elastic powers which are evoked by the adduction-movement.

It is not probable that the thin sheet of muscle-fibers at the base of the oral hemibranchia of every gill, the so-called abductor muscle which is only present in a number of fishes, acts as an abducting power and should help to bring the filaments back again in their normal position. The function of these "abductor muscles" must be another one.

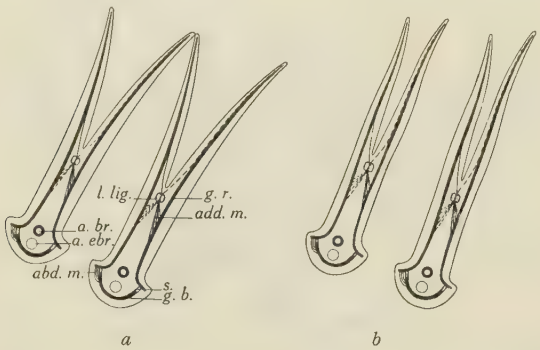


Fig. 4. Schematic diagram of a section through two successive gills with adductor muscles of the second type: *a* during quiet respiration; *b* during the coughing movements. Indications as in fig. 3.

So it is settled from the above mentioned observations that the adductor muscles only have a significance for the cleaning of the gills. The adduction movements are of no importance for the circulation of the blood (Riess[1]), nor for the renewal of the respiratory water (Woskoboinikoff[2], Elfriede Schöttle[3]).

J. Hubertha Bijtel[4]

Zoological Institute of the University of Groningen (the Netherlands), January 7, 1947.

Zusammenfassung

Bei ruhiger Atmung sind die Kiemenspalten der Teleostier sowohl während der Ein- wie während der Ausatmung dadurch verschlossen, daß je zwei einander zugekehrte Filamentreihen der angrenzenden Kiemen sich mit ihren Filamentspitzen berühren. Nur durch die ganz feinen Spalten zwischen den Lamellen der Filamente hindurch kann das Atmungswasser vom Ein- zum Ausatmungsraum strömen.

Die Zusammenziehung der Adduktormuskeln bringt die Spitzen der Filamente zweier auf einem Kiemenbogen stehenden Filamentreihen zur Adduktion, und zwar entweder durch die Drehung des ganzen Filaments oder durch die Streckung seines freien Teiles. Ein- und Ausatmungsraum stehen dann durch breite Spalten miteinander in Verbindung.

Diese Kontraktion der Adduktormuskeln tritt bei den Hustbewegungen auf, sowohl beim Husten nach vorne wie auch beim Husten nach hinten. Die Muskeln haben also eine Bedeutung für die Kiemenreinigung und spielen weder bei der Bewegung des Blutes durch die Kiemengefäße (Riess, 1881, Woskoboinikoff, 1932) noch bei der Erneuerung des Atmungswassers (Elfriede Schöttle, 1932) eine Rolle.

Bibliography

W. v. Buddenbrock, Grundriß der vergleichenden Physiologie, 2. Auflage, 2. Bd., 1939. – J. H. Bijtel, Het bewegingsapparaat der kieuwfilamenten bij de Teleostei (Voorloopige mededeeling). Versl. Ned. Akad. v. Wetensch., Afd. Natuurkunde, *52*, No. 8, 1943. – M. Duvernoy, Du méchanisme de la respiration dans les poissons. Ann. Sci. nat. Sec. Série *12* (1939). – H. J. Jordan, Allgemeine vergleichende Physiologie der Tiere. 1929. – A. Oppel, Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere, 4. Atmungsapparat. 1905. – M. Rauther, Die Syngnathiden des Golfes von Neapel. Fauna e Flora del Golfo di Napoli. Pubblicata della Stazione di Napoli, *36* A. Monographia, 1925. – M. Rauther, Bolk, Göppert, Kallius, Lubosch, Handbuch d. vergl. Anatomie der Wirbeltiere, 3. Bd. (Kiemen der Anamnier, Kiemenderivate der Cyclostomen und Fische), 1937.

[1] A. Riess, Der Bau der Kiemenblätter bei den Knochenfischen. Arch. Naturgesch., 47. Jg., *1* (1881).

[2] M. W. Woskoboinikoff, Apparat der Kiemenatmung der Fische. Zool. Jb., Abt. Anat. Ontog. *55* (1932).

[3] Elfriede Schöttle, Morphologie und Physiologie der Atmung bei wasser-, schlamm- und landlebenden Gobiiformes. Z. wiss. Zool. *140* (1932).

[4] A detailed description of these investigations will appear in Arch. néerland. Zool. *8* (1947).

PRO LABORATORIO

Au sujet de la mesure des modifications de l'adrénalino-sécrétion

De nombreuses méthodes ont été décrites pour mesurer les modifications de la sécrétion d'adrénaline. Parmi les techniques employées, celle de Tournade présente l'avantage de permettre, grâce à la dérivation de la circulation veineuse surrénale d'un Chien dans la veine jugulaire d'un congénère surrénalectomisé, une inscription continue des modifications de l'adrénalino-sécrétion; on enregistre, dans ce but, la pression artérielle de l'animal receveur ainsi que le volume de sa rate. Cette méthode présente cependant l'inconvénient de n'être pas d'une sensibilité extrême, l'adrénaline subissant une forte dilution dans la circulation générale du Chien receveur avant d'exercer son action.

D'autres méthodes s'adressent au prélèvement direct du sang veineux surrénal que l'on fait agir ensuite sur des préparations telles que l'intestin isolé ou sur certains domaines circulatoires. Lors de l'application de ces techniques, le prélèvement du sang veineux surrénal s'accompagne cependant de certains inconvénients pouvant influencer défavorablement la sécrétion d'adrénaline. Contentons-nous de signaler à ce propos la méthode, souvent utilisée, du prélèvement d'un échantillon de sang dans la veine lombo-surrénale, après l'occlusion momentanée de la veine surrénalo-cave, réalisée par une traction exercée sur un fil placé sous cette veine. Cette occlusion change provisoirement la direction du sang veineux surrénal qui, au lieu de se diriger directement vers la veine cave inférieure, reflue, dans ces conditions, vers la veine lombo-surrénale formant cul-de-sac. Il est évident que la traction exercée, peu avant le prélèvement du sang surrénal, par le fil placé sous la veine surrénalo-cave, peut troubler momentanément les conditions de fonctionnement de la surrénale et déterminer certains réflexes qui peuvent avoir leurs répercussions sur la sécrétion adrénalinique.

Voulant, pour certaines expériences actuellement en cours, éviter ces inconvénients et désirant disposer en même temps d'une méthode très sensible permettant de déceler des modifications même légères de la concentration du sang veineux surrénal en utilisant directement ce sang tout en ne lui faisant subir aucune dilution préalable, nous avons appliqué la technique suivante: chez un Chien, anesthésié à la morphine-chloralosane,

nous prélevons, au cou, les deux veines jugulaires externes que nous anastomosons au moyen d'une canule de Payr. Le bout distal de ces jugulaires anastomosées est relié, au moyen d'une canule de Payr, à l'extrémité surrénale de la veine lombo-surrénale, tandis que leur extrémité proximale est insérée, au moyen d'une canule de Payr également, dans le bout central de la veine fémorale du côté correspondant. La veine surrénalo-cave étant liée, tout le sang veineux provenant de la surrénale est dérivé, par l'anastomose jugulaire et par la

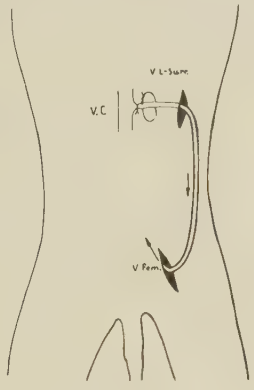


Fig. 1.

veine fémorale, vers la veine cave inférieure (voir schéma). L'abdomen étant refermé et l'anastomose étant extériorisée, la circulation dans la surrénale n'est dès lors plus modifiée au cours de l'expérience et on peut, dans différentes conditions, prélever du sang provenant de la surrénale et en examiner directement les effets sur une préparation sensible à l'adrénaline. Nous avons utilisé, dans ce but, la technique de perfusion de l'oreille isolée du Lapin d'après KRAWKOW-BISSEMSKI, modifiée par J. H. GADDUM et H. KWIATKOWSKI[1].

La méthode, décrite ci-dessus, nous semble présenter l'avantage de permettre de prélever, à volonté, de nombreux échantillons de sang surrénal, sans que ces prélèvements s'accompagnent, de ce fait, de modifications circulatoires et sécrétoires, directes ou réflexes, préalables ou concomitantes, dans la surrénale. En outre, la préparation utilisée s'est montrée très sensible, réagissant à des doses de 0,01 à 0,02 γ d'adrénaline, alors que l'injection intraveineuse d'adrénaline, réalisant des conditions analogues à celles de la technique de TOURNADE, ne détermine une contraction de la rate qu'à des doses notablement plus élevées, soit 0,2 γ d'après HOUSSAY et MOLINELLI[2].

Les résultats des expériences réalisées au moyen de cette technique seront décrits ultérieurement.

J. J. BOUCKAERT et A. VAN LOO

Laboratoire de pathologie générale de l'Université de Gand (Belgique), le 21 février 1947.

Summary

A method is described that allows blood samples to be taken repeatedly from the suprarenal vein, without changing the circulation in the adrenal glands or eliciting reflexes which could interfere with the adrenalin secretion. The vasoconstrictor properties of the blood samples are tested on an isolated blood vessel preparation.

[1] J. H. GADDUM et H. KWIATKOWSKI, J. Physiol. *94*, 87 (1938).
[2] Voir à ce sujet: A. TOURNADE, Traité de Physiologie normale et pathologique, IV, p. 1011.

Détermination du volume plasmatique du Chien, à l'aide du bleu d'Evans T. 1824

Nos recherches sur l'oligurie du Chien brûlé ont soulevé, entre autres, le problème de la réduction du volume plasmatique en tant que facteur possible de cette chute de la diurèse aqueuse. Nous nous sommes attachés, dans ce but, à préciser diverses conditions analytiques concernant cette mesure au moyen du bleu d'Evans T. 1824. Ceci à cause notamment de certaines divergences récentes à ce sujet[1]. Dans cette note, nous exposons brièvement les résultats obtenus.

1° *Choix du filtre au photomètre graduel et vérification de la loi de Beer-Lambert*

500 mg de T. 1824 sont dissous dans un litre d'eau distillée. A partir de cette solution-mère, on en prépare d'autres, aqueuses également, de concentrations variables. D'autre part, trois chiens sont endormis au chloralose. Le sang de l'un des animaux, rendu incoagulable par injection i.v. d'héparine, est récolté à l'artère fémorale. Les sangs des deux autres, sont prélevés séparément, toujours à la fémorale, dans un récipient contenant un petit volume de liquide physiologique additionné d'héparine. Les plasmas, séparés par centrifugation, sont exempts d'hémoglobine. Dans des ballons jaugés, de 50 cm³, on introduit des quantités connues de T. 1824, prélevées à partir de la solution-mère, et l'on complète au moyen de plasma jusqu'au trait de jauge. Chaque plasma est ainsi traité séparément et, de plus, pour chacun on mesure également son absorption propre.

Il résulte de ces diverses mesures que:

1° Le maximum d'absorption pour les solutions aqueuses de T. 1824 correspond au filtre S_{61}. Le même sommet se retrouve également dans les plasmas additionnés de ce colorant.

Exemples

T. 1824 mg °/₀₀	Milieu	S 43	47	50	53	57	61	66,6	72
5	Eau	0,00	0,03	0,05	0,13	0,28	0,29	0,02	0,05
12	Plasma	0,73	0,45	0,41	0,53	0,78	0,83	0,27	0,05

2° La loi de BEER-LAMBERT se vérifie d'une façon très satisfaisante, cependant que la droite obtenue dans le cas des solutions aqueuses de T. 1824 est légèrement différente de celle des plasmas additionnés de ce colorant.

Exemples

T. 1824 mg °/₀₀	Solution aqueuse K 1 cm	Plasma K 1 cm
7	0,44	0,42
9	0,56	0,53
12	0,72	0,70

3° Il faut tenir compte de l'absorption propre de chaque plasma pour S_{61}, dans la standardisation générale et les mesures individuelles. En effet, cette absorption est variable d'un plasma à l'autre.

[1] R. A. PHILLIPS, J. exper. Med. *77*, 421 (1943). – E. W. H. CRUICKSHANK et I. C. WHITFIELD, J. Physiol. *104*, 52 (1945).

Exemples

Plasma N°	1	2	3	4	5	6
K 1 cm pour S_{61}	0,12	0,13	0,43	0,02	0,034	0,05

2° *Hémoglobinémie et absorption photométrique de T. 1824 pour S_{61}*

La brûlure cutanée s'accompagne régulièrement d'hémoglobinémie. Aussi était-il indiqué, pour le but poursuivi, de s'assurer que le dosage de T. 1824 peut encore s'effectuer dans un plasma contenant de l'hémoglobine. Nous avons procédé comme suit: Du plasma hépariné de Chien est additionné d'un petit volume de sang hémolysé de teneur hémoglobinique connue: il sert de témoin. Une préparation identique est additionnée d'une quantité connue de T. 1824. Le volume final de chaque solution est de 50 cm³.

Voici trois résultats obtenus:

Préparations	Hb. mg %	T. 1824 mg %	K 1 cm prévu	K 1 cm trouvé
I	52	I	0,58	0,57
II	124	I	0,58	0,58
III	248	I	0,58	0,54

On voi que lorsque la teneur du plasma en hémoglobine atteint environ 250 mg %, le coefficient d'extinction trouvé pour T. 1824 à S_{61}, est d'environ 7 % plus bas que celui prévu.

3° *Absorption du plasma, de provenance vasculaire diverse, pour S_{61}, chez le Chien, pendant la narcose au chloralose*

L'importance analytique de cette valeur ayant été démontrée plus haut, il nous a paru nécessaire de vérifier si du sang prélevé successivement, dans divers vaisseaux, *in vivo*, chez le même chien, présente sensiblement la même absorption de base pour S_{61}. Citons, à titre d'exemple, les résultats suivants:

Vaisseau	K 1 cm. S_{61}
Jugulaire extérieure	0,047
Artère fémorale	0,047
Veine fémorale	0,046

On voit que l'absorption de ce plasma pour S_{61} est pratiquement la même dans les trois vaisseaux.

4° *Combien de temps après l'injection de T. 1824, faut-il prélever du sang pour le dosage du colorant?*

Citons, à titre d'exemple, les expériences suivantes. Des chiens endormis au chloralose sont héparinés quelques minutes avant le premier prélèvement de sang, fournissant le plasma témoin. La solution physiologique de T. 1824, préparée extemporanément, est injectée i. v. (veine fémorale), à raison de 0,5 cm³ (250 γ) par kg. L'injection dure 5 secondes.

	Chien I 7,850 kg K 1 cm	Chien II 5,930 kg K 1 cm	Chien III 6,450 kg K 1 cm
Plasma témoin (carotide)	0,085	0,020	0,020
1 min après T. 1824 (artère fémorale) . . .	0,45	0,36	0,46
3 min après T. 1824 (jugulaire externe) . .	0,46	0,36	0,44
5 min 30 sec après T. 1824 (carotide)	0,39	0,325	0,405

Il résulte de ces expériences que la prise de sang pour dosage du T. 1824 peut et, de préférence, doit se faire, déjà une minute après l'injection du colorant. Toutefois, à condition de ne pas dépasser 3 min, les résultats sont pratiquement les mêmes.

Conclusion: Nous apportons, dans cette note, une série de précisions concernant la détermination du volume plasmatique du Chien, au moyen du bleu d'Evans T. 1824.

Nous remercions le Dr E. Jorpes (Stockholm) et les maisons Vitrum et Hoffmann-La Roche pour l'héparine, gracieusement mise à notre disposition.

G. Barac

Institut de clinique et de policlinique médicales de l'Université de Liége, le 4 janvier 1947.

Zusammenfassung

Die experimentellen Bedingungen für die Bestimmung des Plasmavolumens beim Hund mit Hilfe von Evans-Blau T. 1824 werden genau besprochen. Zahlenbeispiele belegen die gute Übereinstimmung von berechneten und gefundenen Werten.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Mathematical Methods of Statistics

By Harald Cramér
575 pp., 34 figures.
(Princeton University Press, Princeton 1946) ($ 6/—)

An Lehrbüchern englischer Sprache über mathematische Statistik besteht kein Mangel; in den letzten zwei bis drei Jahren sind vor allem in Amerika verschiedene treffliche Monographien erschienen. Die meisten dieser Veröffentlichungen richten sich aber an Kreise, welche eine Anleitung zur praktischen Anwendung der statistischen Methoden suchen, z. B. Biologen, Mediziner usw., ohne mit den mathematischen Grundlagen allzu stark behelligt zu werden. Die Ableitung und tiefere Begründung der Prüfverfahren fehlt daher in der Regel; geboten wird eine eingehende Rechenanweisung, unterstützt durch die Wiedergabe von Zahlenbeispielen. Der mathematische Statistiker mag diese Tatsache bedauern, aber es ist kaum möglich, dem Nichtmathematiker mehr als die Schluß- und Rechenformeln zu ver-

mitteln; es bleibt nur der Weg, durch möglichst viele gute Beispiele die Anwendung der Methoden zu zeigen.

Das Werk CRAMÉRS (Stockholm) läßt sich nicht mit den eben beschriebenen vergleichen; es richtet sich nicht an «Praktiker», sondern an alle diejenigen, welche sich mit den Grundlagen der modernen Methoden der mathematischen Statistik befassen und die Verbindung mit den Ergebnissen der Wahrscheinlichkeitsrechnung suchen. Die Kompetenz des Verfassers, über die mathematischen Methoden der Statistik zu schreiben, ist unbestritten; CRAMÉR steht in vorderster Linie der mathematischen Statistiker. Für den Wert des Werkes spricht auch die Tatsache, daß die amerikanische Ausgabe in die mathematische Reihe der Veröffentlichungen der Universität Princeton aufgenommen worden ist.

Die Verfahren der mathematischen Statistik sind ohne weitgehende mathematische Kenntnisse nicht verständlich. CRAMÉR beginnt deshalb sein Werk mit einer Beschreibung derjenigen Zusammenhänge, deren er für seine Ableitungen später bedarf. Der zweite Teil befaßt sich mit den Verteilungen; der dritte enthält vor allem die Theorie der Prüfverfahren; auf einzelne Abschnitte näher einzugehen, kann in dieser Zeitschrift abgesehen werden. Die Darstellung CRAMÉRS richtet sich, wie schon erwähnt, nicht an Wissenschafter, die eine praktische Rechenanweisung suchen, sondern an Fachleute, welche die Vorbedingungen besitzen und den Willen haben, auch schwierigeren mathematischen Ableitungen zu folgen. Für diese aber kann das Buch CRAMÉRS sehr empfohlen werden; es ist zusammen mit demjenigen von KENDALL ein Standardwerk für den mathematischen Statistiker.

E. ZWINGGI

Structures of metals

By CHARLES S. BARRETT

Crystallographic methods, principles, and data
567 pp., 415 figures, first edition, third impression.
(McGraw-Hill Book Co., Inc., New York and London 1943)
(geb. Fr. 30.–)

Dieses Buch stellt den ersten Band der «Metallurgy and Metallurgical Engineering Series» dar, von welcher noch vier weitere Bände erschienen sind. Es will als Text- und Nachschlagewerk dienen und dem Studenten der Metallographie die nötigen theoretischen kristallographisch-strukturellen sowie die experimentellen Grundlagen liefern. Daneben stellt es für Nichtspezialisten einen wertvollen Ratgeber dar, bei dem man über alle Hauptfragen rasch Antwort holen kann. Die 23 Kapitel tragen folgende Überschriften: Fundamentals of crystallography, stereographic projection, X-rays, diffraction of X-rays by crystals, Laue method, rotation-crystal methods, powder method, determination of crystal structure, pole figures and orientation determinations, determination of constitution diagrams with X-rays, structure of metals and alloys, superlattices, electron theory of metals and alloys, stress measurement by X-rays, plastic deformation of metals, theories of slip, structure of cold-worked metal, preferred orientations resulting from cold work, preferred orientations after recrystallization, orientations in castings and in deposited films, anisotropy, age hardening and transformations, electron diffraction, appendix (speziellere strukturelle Darlegungen und Tabellen). Die Ausstattung des Buches ist gut.

W. NOWACKI

Le problème des eaux potables et des eaux usées

Par M. BORNAND. 106 pp.

(Librairie de l'Université F. Rouge, Lausanne 1945)
(Fr. 4.50)

In einem ersten Hauptabschnitt behandelt der Verfasser den Kreislauf des Wassers, die Anforderungen, die an ein gutes Trinkwasser gestellt werden, mit Einschluß der gesetzlichen Bestimmungen, ferner die behördliche Kontrolle, Lokalaugenschein, chemische, physikalische und bakteriologische Analyse und die Vorschriften für eine einwandfreie Probenerhebung. Dann folgt die Wasseraufbereitung und die Maßnahmen zur Verhinderung der Krankheitsübertragung durch das Wasser. In einem zweiten Abschnitt wird das Wichtigste über das Abwasser und dessen Aufbereitung mitgeteilt. Den Abschluß bilden Formulare zur einwandfreien Probenerhebung. Einige instruktive Abbildungen illustrieren das Bändchen, dessen Inhalt nicht nur von einem großen Fachwissen, sondern auch von einer langjährigen praktischen Erfahrung auf dem Gebiet des Trinkwassers und des Abwassers zeugt.

Nachteilig wird das Fehlen einer Inhaltsübersicht und eines Sachregisters empfunden, wodurch eine rasche Orientierung erschwert wird. Dies läßt sich aber in einer 2. Auflage leicht beheben, so daß das Bändchen auch in seiner jetzigen Form bestens empfohlen werden kann. Da es keine chemischen Formeln enthält, ist es auch dem Nichtchemiker ohne weiteres verständlich.

H. MOHLER

Marine Microbiology

By CLAUDE E. ZOBELL

240 pp., 12 Ill.
(The Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., U.S.A.; N.V. Erven P. Noordhoff, Groningen, Holland 1946), (5 $)

Ozean und Binnenmeere bedecken mehr als 70% der Erdoberfläche, ihre durchschnittliche Tiefe beträgt das Fünffache der durchschnittlichen Erhöhung des Landes über dem Meeresspiegel, und die tiefste gemessene Meerestiefe ist noch rund 2000 m tiefer als die höchsten Gipfel des Himalaya hoch sind. Überall in diesen unvorstellbar großen Wassermassen befinden sich Bakterien, schwebend nahe der Oberfläche und der Küste, eingeschlossen im Schlamm des Grundes, in Tiefen von mehr als 3000 m, trotz der dort herrschenden hohen Drucke, unabhängig vom Salzgehalt, von der Temperatur des Wassers und von der fast vollkommenen Lichtlosigkeit in größeren Tiefen. Aber diese Mikroorganismen sind noch sehr wenig erforscht. Neben der medizinischen Bakteriologie und der Mikrobiologie des Bodens und der Abwässer blieb die Bakteriologie der Seen und des Meeres ein Stiefkind der Wissenschaft. Dies ist um so verwunderlicher, als den Bakterien des Meeres eine enorme Bedeutung zukommt, die sich auf die verschiedensten Zweige nicht nur der Hydrobiologie sondern der Ozeanographie überhaupt erstreckt. Ein Großteil des Stoffumsatzes, der sich im marinen Milieu vollzieht, ist bakteriell bedingt. Bakterien mineralisieren organische Substanz, sie bauen Ammoniak zu Nitraten und Nitriten ab, sie sind wesentlich am Schwefel- und Phosphatabbau beteiligt. Vielen Meerespflanzen synthetisieren die Bakterien ihre Nährstoffe, und marinen Tieren dienen sie selbst zur Nahrung. Sie sind mitbeteiligt bei der Entstehung geologischer Strukturen, indem sie die Diagenese des sedimentierten Ma-

terials in vielerlei Hinsicht beeinflussen, und beim chemischen Auf- und Abbau des Petroleums spielen sie eine bisher viel zu wenig beachtete Rolle. Aber auch wirtschaftliche Bedeutung kommt ihnen zu, als Agenzien, die Fische und andere für den Handel wichtige Meerestiere rasch verderben können; als Filmbildner an Schiffskörpern, Brückenpfeilern, Kabeln, auf denen sich dann weitere Organismen festsetzen; als Schädlinge, welche Fischernetze, Korkschwimmer und andere Fischereiwerkzeuge zugrunde richten.

Angesichts dieses Mißverhältnisses zwischen der vielseitigen Bedeutung mariner Mikroorganismen und den geringen Kenntnissen, die man über sie besitzt, ist es höchst begrüßenswert, daß sich einer der wenigen Kenner mariner Bakteriologie, Claude E. ZoBell, der an der «Scripps Institution of Oceanography» der Universität von Kalifornien in La Jolla tätig ist, entschlossen hat, unser heutiges Wissen über diesen Zweig der Mikrobiologie in einer Monographie zusammenzufassen, und man darf den Autor beglückwünschen zu der Art, in der er sich dieser Aufgabe entledigte. Nach einer historischen Einleitung und kurzen Angaben, die das Wichtigste über das marine Milieu mitteilen, wird die spezielle Technik der marinen Bakteriologie ausführlich besprochen. Es folgt eine Charakteristik der Meeresbakterien, eine eingehende Analyse ihrer biochemischen Leistungen, ferner interessante Angaben über die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Arten von Mikroorganismen – Symbiose und Antibiose – sowie schließlich eine Würdigung der hygienischen und der ökonomischen Bedeutung mariner Bakterien und ihrer Leistungen. Von allgemeiner biologischer Bedeutung sind die Beobachtungen des Autors über den Zusammenhang zwischen Form und Größe der Kulturgefäße sowie der zur Verfügung stehenden Oberflächen und der Zahl sich entwickelnder Bakterien, sowie der Abhängigkeit der Bakterienzahl von anwesendem Plankton und der Intensität der Strahlung, der das Wasser ausgesetzt ist. Auch die Unempfindlichkeit der Bakterien enormen Schwankungen des hydrostatischen Drucks gegenüber ist bemerkenswert. – Zwei kritische Bemerkungen seien hier immerhin erlaubt: es ist schade, daß eines der reizvollsten Kapitel mariner Mikrobiologie, die Leuchtsymbiosen zwischen Photobakterien und Meerestieren (Fischen, Pyrosomen, Salpen, Zephalopoden u. a.) in der Monographie ZoBells überhaupt nicht erwähnt werden. Paul Buchner hat diesem interessanten biologischen Phänomen in seinem Buche «Tier und Pflanze in Symbiose» einen ausführlichen Abschnitt gewidmet und darin auch ein großes Literaturmaterial zusammengetragen, das unbedingt in eine «Marine Mikrobiologie» mit hinein gehört. Es ist zu hoffen, daß dieses Versäumnis in einer späteren Auflage nachgeholt werde.

Sodann fällt es schwer, sich die Ansichten des Autors über die pathogenetische Bedeutung von Bakterien für Meeresbewohner zu eigen zu machen, wenn er sagt (S. 175), das marine Milieu sei deswegen ungeeignet für die Verbreitung von Krankheitserregern, weil jedes befallene Tier, sobald es durch die Krankheit weniger konkurrenzfähig geworden ist, sofort eine leichte Beute von Räubern werde und die Infektkette abreiße, sobald das kranke Tier gefressen wird. Auch unter terrestrischen Verhältnissen sind kranke Tiere eine leichtere Beute als gesunde, und außerdem ist das Wasser in vielerlei Hinsicht ein günstigeres Milieu zur Verbreitung von Keimen als Boden und Luft. Auch Parasiten werden nur dank sinnreicher Einrichtungen von Wirt zu Wirt übertragen, sonst wäre ihre Art längst ausgestorben. Und wenn man die zahlreichen bekannten Symbiosen zwischen Meerestieren und Bakterien in Betracht zieht, so kann man nicht daran zweifeln, daß auch Krankheitserreger sich unter ähnlichen Umweltsbedingungen übertragen lassen. Zwar wissen wir bis jetzt sehr wenig über bakterielle Infektionen und deren Erreger bei Wassertieren, und auch ZoBell selbst vermutet, daß sie viel häufiger seien als unsere spärlichen Kenntnisse vermuten lassen.

Ein letztes Kapitel ist der Mikrobiologie von Inlandgewässern gewidmet, wobei auch die Pionierarbeit schweizerischer Forscher (Düggeli u. a.) gebührend gewürdigt wird. Überhaupt zeichnet sich die Monographie ZoBells durch eine in der heutigen Zeit bemerkenswert und ungewohnt vollständige und den historischen Tatsachen gerecht werdende bibliographische Dokumentation höchst wohltuend aus, so daß die Literaturzusammenstellung allein für sich schon infolge ihrer Vielseitigkeit von Wert ist. Das Buch, zu dem S. A. Waksman das Vorwort verfaßte, wurde vom Verlag mit aller Sorgfalt ausgestattet. Hübsche Holzschnittvignetten geben ihm ein liebenswürdigeres Gepräge, als man es sonst bei wissenschaftlichen Büchern gewohnt ist, und aus dem ganzen Werke weht dem Leser ein frischer Meereshauch entgegen, der dem «land-locked biologist» eigentliche Lust gibt, sich mit diesem großen, fesselnden, und noch so unerforschten Gebiet der marinen Mikrobiologie eingehender zu befassen.

Hubert Bloch

NOVA

Revues - Zeitschriften - Riviste - Journals

«Analytica Chimica Acta»

Editor: Paul-E. Wenger (Geneva)

Assistant Editors: G. Charlot, Paris – C. Duval, Paris – F. Feigl, Rio de Janeiro – R. Flatt, Lausanne – J. Gillis, Gand – C. J. van Nieuwenburg, Delft – N. Strafford, Manchester.

Elsevier Publishing Company, Inc., New York–Amsterdam.

«Biochimica et Biophysica Acta»

Editorial Board: W. T. Astbury, Leeds – A. Braunstein, Moscow – C. F. Cori, St. Louis – Cl. Fromageot, Lyon – K. Linderstrom-Lang, Copenhagen – H. G. K. Westenbrink, Utrecht – R. W. G. Wyckoff, Bethesda.

Advisory Board: J. D. Bernal, London – J. Brachet, Brussels – T. Caspersson, Stockholm – C. R. Harington, London – A. J. Kluyver, Delft – H. A. Krebs, Sheffield – A. de Muralt, Bern – A. J. Oparin, Moscow – J. Roche, Marseille – M. Sreenivasaya, Bangalore – D. L. Talmund, Moscow – A. Tiselius, Uppsala – Hsien Wu, Peiping.

Elsevier Publishing Company, Inc., New York–Amsterdam
Interscience Publishers, Inc., New York.

«Pacific Science»

Board of Editors: A. Grove Day, Ervin H. Bramhall, Vernon E. Brock, Harry F. Clements, Robert B. Dean, Charles H. Edmondson, Harvey I. Fisher, Frederick G. Holdaway, Maurice B. Linford, A. J. Mangelsdorf, Harold St. John, Chester K. Wentworth.

Published by the University of Hawaii, Honolulu.

«Die Naturwissenschaften» (33. Jahrgang, 1946)

Herausgegeben von Arnold Eucken, unter Mitwirkung von J. Bartels, H. Brockmann, P. Ten Bruggencate, C. W. Correns, H. v. Ficker, R. Grammel, O. Hahn, R. Harder, M. Hartmann, W. Heisenberg, A. Kühn, M. v. Laue, H. Martius, R. W. Pohl, H. Rein, E. Schmidt, H. Stille.

Springer-Verlag, Berlin/Göttingen.

«Biologia»

A Monthly Newsletter Supplement to Chronica Botanica – Frans Verdoorn, Ph. D., Editor.

The Chronica Botanica Co., International Plant Science Publishers, Waltham, 54 – Massachusetts – U.S.A.

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Experientia majorum

Notizen zur Geschichte der Sphygmographie

Unter den Registrierungsmethoden der modernen Physiologie nimmt die Sphygmographie, d. h. die Pulsschreibung, eine wichtige Stellung ein. Otto Frank (geb. 1865), der sich um die Entwicklung dieses Zweiges der Hämodynamik große Verdienste erworben hat, sagt in seiner kritischen Zusammenstellung über die einzelnen Verfahren[1], daß «diese Methode systematisch überhaupt noch nicht ausgebildet» sei. Um so wertvoller dürften einige geschichtliche Bemerkungen zur Pulsregistrierung sein, die vor allem einen Überblick über die verschiedenen Etappen der Entwicklung bieten möchten.

Die vorliegende Skizze wurde veranlaßt durch die Erinnerung an eine der entscheidendsten Erfindungen in der neueren Physiologie. Sind doch *100 Jahre* verflossen, seitdem Karl Ludwig (1816–95), damals in Marburg, seine *Vorrichtung für die graphische Registrierung der Pulswelle* in die Wissenschaft eingeführt hat. Sein «*Kymographion*», wie es später von Alfred Wilhelm Volkmann (1800–1877) treffend genannt wurde[2], ist im Jahrgang 1847 des «Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin» beschrieben, das von Johannes Müller herausgegeben wurde. Der Titel der Abhandlung lautet: «Beiträge zur Kenntnis des Einflusses der Respirationsbewegungen auf den Kreislauf im Aortensystem.» Auf den Inhalt dieser besonders in methodischer Hinsicht bedeutenden Arbeit werden wir später (im Juniheft) eingehen.

In der Entwicklung der Sphygmographie – die Bezeichnung ist aus dem griechischen *σφυγμός* abzuleiten, das ursprünglich den sichtbaren Puls bezeichnete, wie der Athener Arzt Skevos Zervos[3] nachgewiesen hat – lassen sich fünf Stufen abgrenzen. Zunächst wird lediglich durch Besichtigung und Betastung des Kranken sowie grobe Zeitmessungsverfahren der Puls in seiner diagnostischen Bedeutung erkannt und nach den einzelnen Arten unterschieden. Seit dem 16. Jahrhundert stoßen wir auf die ersten Versuche, mit Hilfe von Apparaten die Frequenz des Pulses zu bestimmen. Anschließend an die kurz darauf begründete Hydrodynamik versuchen auch die Biologen, die Gesetze der Kreislaufbewegung durch die Messung des Blutdruckes aufzuzeigen. Die Fortschritte der instrumentellen Technik gestatten den Ärzten des letzten Jahrhunderts, von der «blutigen» zur «unblutigen» Methode der Blutdruckmessung überzugehen. Hieraus entstehen die ersten klinisch verwendbaren Apparate zur Sphygmomanometrie in der medizinischen Praxis, auf die jedoch an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden soll.

Die wichtigsten Äußerungen zur Pulslehre im Altertum und Mittelalter

Wenn wir uns auf die medizinische Untersuchung des Pulses beschränken, so ist an erster Stelle der Arzt der hippokratischen Zeit («Hippokrates», etwa 400 v. Chr.) zu nennen, dem Galen die ersten Kenntnisse des Pulses auf Grund der Palpation zuschreibt. Der Puls wird von einer Bewegung der Schlagadern abgeleitet. In mustergültigen Krankengeschichten des «*Corpus hippocraticum*» sind auch schon einzelne krankhafte Abweichungen, wie der «zitternde, kaum fühlbare Puls» des Zimmermanns Zoilos, beschrieben. Es kann jedoch nicht unsere Aufgabe sein, in diesem Zusammenhang auf die Einzelheiten der geschichtlichen Entwicklung der Pulsdiagnostik am Krankenbett einzugehen.

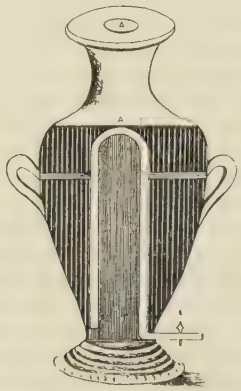
Von besonderem Interesse sind die Untersuchungen der Physiologen, die uns unter den alexandrinischen Ärzten entgegentreten. Vor ihnen vertrat Praxagoras aus Kos (etwa 350 v. Chr.) die Ansicht, daß der Puls nicht nur auf die Tätigkeit des Herzens zurückzuführen sei, sondern daß auch die Arterien durch die Aufnahme des «Pneuma» aus der Umgebung an seiner Entstehung beteiligt seien. Der größte Arzt unter den Alexandrinern ist unumstritten Herophilos aus Chalkedon (etwa 300 v. Chr.). Auch die Pulslehre hat seiner sorgfältigen Forschung, wie später Rufus von Ephesus (siehe unten) hervorhebt, viel zu verdanken. Hatte Praxagoras quantitative Abstufungen zur Unterscheidung der einzelnen Pulsarten vorgenommen, so sind die verschiedenen Typen des Pulses nach seinem Schüler lediglich aus qualitativen Unterschieden zu erklären. Der Puls ist eine vom Willen völlig unabhängige, «rein naturgemäße» Bewegung, während z. B. die Palpitationen (Herzklopfen) vom Gefühl abhängen. Erst mit dem Tod hört der Puls auf. Über diese grundsätzliche Feststellung hinaus war Herophilos jedoch auch der erste, der eine Messung der Pulsfrequenz versuchte. Dies haben unabhängig voneinander vor allem der Basler Philolog Hermann Schöne[1] sowie der bereits genannte Zervos[2] aus einer Handschrift des *Μαρκελλῖνος* (lebte vermutlich nach Galen) nachgewiesen. Unter dem Titel: «*Περὶ Σφυγμῶν*» berichtet der nach der Annahme Schönes im übrigen unbekannte Arzt folgendes über die Methode des Herophilos (in der Übersetzung von Schöne): «Herophilos setzte, wie berichtet wird, auf die Pulsfrequenz als ein sicheres Symptom so großes Vertrauen, daß er eine Wasseruhr herstellte, deren Kapazität der festgestellten Anzahl der normalen Pulsschläge einer jeden Altersstufe entsprach. Beim Krankenbesuch pflegte er die Wasseruhr aufzustellen und dem Fiebernden den Puls zu fühlen; je mehr Pulsschläge dann über die Normaluhr hinaus bis zur vollständigen Füllung der Wasseruhr vorübergingen, um so viel mehr war nach seiner Erklärung der Puls beschleunigt, d. h. stärkeres oder schwächeres Fieber vorhanden.»

Nach Rufus von Ephesus unterscheidet Herophilos entsprechend dem Alter vier verschiedene Pulsarten, die sich durch die Länge der Systole und Diastole voneinander unterscheiden. Zur Veranschaulichung wählt der berühmte Vertreter der hellenistischen Heilkunde die vier Füße der griechischen Metrik. Die Altersstufe des Kindes zeigt wie der Pyrrhichius (⏑ ⏑) kurze Systole und Diastole, der Puls des Heranwachsenden entspricht dem Trochäus (– ⏑), beim Erwachsenen sind Systole und Diastole gleich lang wie beim Spondäus (– –), und im Greisenalter ist schließlich die Diastole doppelt so lang wie die Systole entsprechend dem Iambus (⏑ –). Ohne Zweifel benützte Herophilos für die Unterscheidung dieser Pulsarten die beschriebene

[1] Hdb. d. physiol. Methodik, Bd. 2², S. 70, Leipzig 1913.
[2] Die Hämodynamik nach Versuchen, S. 148, Leipzig 1850.
[3] Ein Beitrag zur Lehre von der Sphygmologie, Wien. klin. Rdsch. *16*, 581 (1902).

[1] Festschr. z. 49. Vers. dtsch. Philol., S. 448–472, Basel 1907.
[2] Mitt. Gesch. Med. *8*, 468 ff. (1909).

«Klepsydra», mit der er eine bestimmte Zeitdauer abzugrenzen vermochte. Diese erreichte er dadurch, daß er aus einem höherstehenden Gefäß in ein tieferes Wasser ausfließen ließ. Durch die Wahl des zweiten Gefäßes vermochte er vier verschiedene Zeiten festzusetzen. Ähnliche Apparate konstruierte bekanntlich später auch Heron von Alexandrien[1]. Zervos versuchte das Gefäß des Herophilos zu rekonstruieren (siehe untenstehende Abbildung). Für Einzelheiten des Textes von Marcellinus muß auf die vollständige Wiedergabe bei Schöne verwiesen werden. Die Anschauungen dieses spätgriechischen Arztes scheinen sich weitgehend mit denjenigen des Galen zu decken. Die oben zitierte Stelle zeigt auch, daß Herophilos aus der Frequenz des Pulses bestimmte Schlüsse auf die Körpertemperatur des Kranken zog, gleichzeitig haben wir also hier wohl das erste «Thermometer» vor uns.



Rekonstruktion der von Herophilos verwendeten Wasseruhr nach der vermutlich richtigen Klepsydra des Aristoteles (nach S. Zervos).

Die späteren Herophileer und die Vertreter der verschiedenen medizinischen Schulen zur Zeit des Spätheilenismus (Empiriker, Pneumatiker) schließen sich eng an die Auffassung des großen Meisters anatomischer und physiologischer Forschung an. Ein gewisser Rückschritt scheint jedoch z. B. bei Athenaios aus Attalia (1. Jh. n. Chr.) nach der Überlieferung der Stelle durch Galen insofern zu verzeichnen, als er die Bewegung des Herzens und der Gefäße gleichzeitig erfolgen ließ, während früher die Aktion von Herz und Schlagadern getrennt worden war (Praxagoras und wohl auch Herophilos).

Die erste zusammenfassende Abhandlung («*Συνόψις περὶ σφυγμῶν*») wird von den Fachleuten (Ch. Daremberg u. a.) dem bedeutenden Anatomen Rufus von Ephesus (1. Jh. n. Chr.) zugeschrieben. In dieser wenig gewürdigten Schrift wird nicht nur ein ausgezeichneter Überblick vermittelt über die früheren Anschauungen[2], sondern Rufus versucht auf Grund eigener Vivisektionsstudien ein genaues Bild von der Entstehung des Pulses zu vermitteln: «Das Herz nimmt durch die Anziehung des Pneuma aus der Lunge dieses zunächst in seine linke Kammer auf, dann verteilt es dieses durch seine Verkleinerung in die Arterien. Angefüllt durch das Zusammenfallen («*ἐπὶ μὲν τῆς συμπλώσεως*») des Herzens rufen die Arterien des ganzen Körpers den Puls hervor; wenn sie sich leeren, bewirken sie die Systole... [gemeint ist hier offenbar die Systole der Arterien]. Wir stellen zwar fest, daß wirklich die Pulsschläge des Herzens und der Arterien synchron sind; dies ist klar; aber die Schläge finden in den Arterien statt, wenn sie sich anfüllen, anderseits im Herzen, wenn es sich entleert.» Dann verfolgt Rufus die Formveränderung des Herzens bei seiner Tätigkeit. – In aller Deutlichkeit beschreibt der erste große Anatom der christlichen Zeitrechnung die alternierende Entleerung und Anfüllung von Herz und Arterien, ein Vorgang, dessen Bedeutung allerdings erst von Harvey voll und ganz erkannt wurde. Wenn also einzelne Historiker (z. B. Zervos, 1902) das große Verdienst der richtigen Anschauung über die Entstehung des Pulses dem Galen (131–201 n. Chr.) zuschreiben, so dürfte dies nicht ganz den Tatsachen entsprechen. Denn Galen basierte wohl in seinen Darlegungen auf Rufus.

Das Mittelalter blieb für die Entwicklung der Sphygmographie ebenso unfruchtbar wie für die übrige Physiologie. Vielleicht fördern allerdings die weiteren Nachforschungen in den handschriftlichen Aufzeichnungen der damaligen Gelehrten neue überraschende Erkenntnisse zutage. Wenn sich die klinische Beobachtung des Pulses seit den Zeiten Galens zu schönster Blüte, ja zu einer eigentlichen medizinischen Disziplin entwickelte, so sind auch die geschichtlichen Wurzeln für die *graphische* Registrierung der Bewegungsvorgänge im Mittelalter zu suchen. Dem Physiker Pierre Duhem in Bordeaux sind im wissenschaftlichen Vermächtnis verschiedener französischer Gelehrter des 13. und 14. Jahrhunderts manche überraschende Feststellungen geglückt, die er erstmals im 3. Band seines Werkes «Etudes sur Léonard de Vinci» (Paris 1913) mitteilte. In unserem Zusammenhang interessiert am meisten der aus der Pariser Schule hervorgegangene Normanne Nicole Oresme (etwa 1320–82), der 1377 von Karl V. zum Bischof von Lisieux ernannt wurde. Die Bibliothèque nationale in Paris verwahrt ein Manuskript «*De uniformitate et difformitate intentionum*», das von Oresme verfaßt wurde. Es kann hier nicht auf den geistigen Hintergrund eingegangen werden, in den hinein diese wichtige Abhandlung zu stellen ist. Auch ohne spezielle Erläuterung der einzelnen scholastischen Begriffe wird man die Bedeutung der in folgenden Worten zum Ausdruck kommenden Erkenntnis ermessen können (übersetzt nach Duhem, p. 377 ff.): «Mit Ausnahme der Zahlen kann jede meßbare Größe in der Art einer kontinuierlichen Quantität veranschaulicht werden. Um sie zu messen, muß man sich Punkte, Oberflächen, Linien vorstellen... Jede Intensität, an die man einen Maßstab irgendwelcher Art anlegen kann, wird man durch eine gerade Linie darstellen können, die senkrecht über einem Punkt des Raumes oder des Trägers dieser Intensität errichtet ist. Welches auch das Verhältnis zwischen zwei Intensitäten derselben Art sei, wird man ein entsprechendes Verhältnis zwischen den entsprechenden Linien finden und umgekehrt. Die verschiedenen Qualitäten können auf die angemessenste Weise durch eine Gerade dargestellt werden, die vom Subjekt ausgeht und senkrecht über den verschiedenen Punkten errichtet wird... Gleiche Intensitäten werden durch gleiche Linien dargestellt werden.»

Mit Recht zieht Duhem aus der Darstellung Oresmes den Schluß[1], daß es sich hier um eine Form der graphischen Registrierung handelt, in der durch zwei senkrecht verlaufende Koordinaten die «*longitudo*» und «*latitudo*» eines Punktes dargestellt werden. Wenn auch

[1] Siehe Ed. Wilh. Schmidt, Bd. 1, S. 456, Leipzig 1899.

[2] Vgl. die vortreffliche Ausgabe von Daremberg, beendigt durch Ch. E. Ruelle, Œuvres de Rufus d'Ephèse, S. 219–232, Paris 1878/1879.

[1] Vgl. auch die neueste Studie von Ernst Borchert, Die Lehre von der Bewegung bei Nicole Oresme, Beitr. z. Gesch. d. Philos. d. Mittelalt., Bd. 31, Heft 3, Münster 1934.

der eigentliche Kern der neuen Wahrheit erst erkannt wird, nachdem man sich durch die fremden Termini der scholastischen Begriffswelt hindurchgearbeitet hat, so muß doch das unumstrittene Verdienst des französischen Theologen anerkannt werden. An seine Methode der graphischen Darstellung sollte später GALILEI anknüpfen und mit ihrer Hilfe zu der exakten Formulierung der ersten Naturgesetze gelangen. Die Anwendung dieses Verfahrens auf die Erfassung biologischer Vorgänge ließ allerdings bis um die Mitte des letzten Jahrhunderts auf sich warten.

Am Ausgang des Mittelalters verdient hier noch der Kirchenfürst NIKOLAUS von Kues (CUSANUS, 1401 bis 1464) genannt zu werden, den schon HALLER (siehe später) in seiner bibliographischen Übersicht über die Pulsforschung erwähnt hat. Auch der deutsche Kardinal legte der quantitativen Betrachtung der biologischen Phänomene größten Wert bei und benützte für die Pulszählung die Wasseruhr (Klepsydra). Sein Verfahren, das demjenigen des HEROPHILOS gleicht, wird in seiner Schrift «*Idiota de Sapientia, de Mente, de staticis experimentis*» unter der letztgenannten Überschrift in der Form eines Zwiegesprächs[1] erörtert. Der Kusaner benützte die Zeitbestimmung mittels der Wasseruhr auch für die Ermittlung der Atemfrequenz. So finden wir also im klassischen Altertum und im ausgehenden Mittelalter einen Weg aufgezeigt, der die zeitliche Bestimmung rhythmischer Vorgänge ermöglichte. In diesem einfachen Verfahren liegt der Keim verborgen für die weitere Entwicklung der Sphygmographie, die im Anschluß an die Begründung der Dynamik erfolgen sollte.

H. BUESS

[1] Dieses ist unter Beifügung des lateinischen Originals in deutscher Übersetzung wiedergegeben durch HANS FISCHER, Schweiz. med. Wschr. *70*, Nr. 23 (1940). Festschr. f. Louis Michaud.

Discours prononcé par F. Joliot-Curie à la cérémonie en l'honneur de Paul Langevin

Au Grand Amphithéâtre de la Sorbonne le 25 février 1947

Madame Langevin,
Mesdames, Mesdemoiselles, Messieurs,

L'honneur m'est échu de prendre la parole au nom du Collège de France, au nom de cette grande maison quatre fois centenaire, qui, depuis plus d'un siècle, a pris sans interruption une part très considérable au développement de la physique, science relativement jeune.

C'est en effet à la fin du dix-huitième siècle que la chaire de philosophie grecque et latine fut transformée en chaire de physique générale et mathématique, tandis qu'une chaire nouvelle prenait au moment de la Révolution le titre de physique générale et expérimentale. Il me suffit de citer les noms des illustres physiciens qui occupèrent successivement ces chaires, jusqu'au début du 20e siècle, pour dire toute l'importance de la contribution du Collège de France à ce grand et si vivant domaine de la Science: JACQUES COUSIN, BLOT, JOSEPH BERTRAND, MARCEL BRILLOUIN pour la physique mathématique, LEFÈVRE-GUINEAU, AMPÈRE, SAVART, REGNAULT, MASCART pour la physique expérimentale.

C'est en 1909 que l'assemblée du Collège de France, soucieuse de maintenir à un très haut niveau l'enseignement et l'effort scientifique de l'établissement, fit appel à PAUL LANGEVIN pour succéder à MASCART. PAUL LANGEVIN, depuis sept années déjà, suppléait MASCART au Collège. La valeur exceptionnelle de ses travaux et la fécondité de son enseignement devaient naturellement conduire l'assemblée à porter son choix sur le jeune et déjà célèbre physicien. PAUL LANGEVIN eut la joie de devenir ainsi le proche collègue de MARCEL BRILLOUIN dont il avait été l'élève à l'Ecole Normale d'abord, au Collège de France ensuite. Il aimait à parler de son ancien maître et à lui exprimer en maintes occasions sa gratitude et son affection. MARCEL BRILLOUIN était fier de son élève, et, de sa retraite, à Melle, où le retient son grand âge, il associe sans doute sa pensée à la nôtre ce soir, comme il le fit lors de l'émouvante cérémonie organisée il y a deux ans dans ce même amphithéâtre par le Front national universitaire à l'occasion du 75e anniversaire de PAUL LANGEVIN. MARCEL BRILLOUIN écrivit alors à son ami et confrère une très belle lettre qui définit mieux que je ne saurais le faire l'œuvre au Collège de France de notre regretté maître.

Je désire vous en lire quelques fragments,

« Que je pense souvent, dans ma quasi solitude rurale, aux années où j'ai eu le plaisir de vous interroger, pour l'entrée à l'Ecole Normale, sans pouvoir trouver une limite à l'étendue, à la précision, à la clarté des connaissances acquises par vous à l'Ecole de physique et et chimie que vous dirigez maintenant, et par la conversation avec PIERRE CURIE... Quant vous êtes entré à l'Ecole Normale, votre esprit avait déjà acquis toute sa maturité, et je ne crois pas vous avoir appris grand chose.

Ce qui a le plus ajouté à vos connaissances, c'est le séjour que vous avez fait, peu après votre sortie de l'Ecole Normale, à l'Université de Cambridge. Là vous avez trouvé des maîtres dont la formation toute différente de celle que nous donnait en France l'organisation primaire supérieure ou secondaire, obligeait un esprit déjà formé comme le vôtre, à des remaniements assez importants en vue de bien utiliser la fréquentation de savants éminents comme J. J. THOMSON, LARMOR et de camarades de laboratoire qui allaient devenir rapidement célèbres, comme RUTHERFORD, WILSON, TOWSEND. En revenant de Cambridge, vous étiez, à mon avis, le professeur typique destiné au Collège de France et je n'ai pas eu de peine à faire partager cette opinion à mon beau-père MASCART.

Dans cette chaire, vous avez pu donner la pleine mesure de votre promptitude à vous assimiler, à compléter et à exposer avec une étonnante clarté, les théories les plus nouvelles et imprévues, provoquées par les résultats inattendus de MICHELSON: l'importance du changement de variable de LORENTZ: et la forme, la plus simple, d'abord, la plus complète, quelques années après, de la théorie de la relativité d'EINSTEIN. D'autres ont fait imprimer plus vite des livres sur ces délicates théories; c'est de vous, au Collège de France, que tous ceux qui les savent bien, et avec finesse, les ont apprises, soit à vos leçons, soit aux réunions avec discussions, fréquentées avec assiduité chaque mardi et vendredi dans le grand et peu confortable amphithéâtre de physique.

Que n'y avez-vous pas ajouté! Que n'avez-vous pas semé alors, presque sans vous en douter, par les remarques que vous suggéraient les objections ou commentaires de quelques-uns des assistants et non des moindres...»

Ce bel et juste hommage exprimé par ce grand vétéran de la physique, combien nous, jeunes élèves de PAUL LANGEVIN, nous le lui avons rendu du fond de nos cœurs lorsque, assis sur les bancs de l'amphithéâtre du Collège en compagnie de savants et professeurs plus âgés, nous écoutions, attentifs, les leçons magistrales. Il n'est peut-être aucun des physiciens de notre temps qui n'ait contracté quelques dettes envers ce maître exceptionnel.

Citer tous les noms des physiciens français qui doivent à PAUL LANGEVIN le meilleur de leur formation est impossible, la liste en est trop longue. Qu'il me soit permis cependant de rappeler quelques noms en compagnie desquels j'ai fréquenté les cours et les réunions de discussion de physique du Collège.

EDMOND BAUER, LÉON BRILLOUIN, LOUIS DE BROGLIE, FRANCIS PERRIN, RENÉ LUCAS, SAPHORES, TOURNIER, NICOLLE, PIERRE BIQUARD, JEAN et ANDRÉ LANGEVIN et bien d'autres encore, *Courtines*, hélas décédé il y a quel-

ques années, le fidèle chef de travaux du laboratoire de physique, Eugène Bloch mort en déportation, et enfin Jacques Solomon, l'un de ses plus fidèles auditeurs, devenu son gendre, arrêté pour faits de résistance et fusillé par les Allemands.

C'est dans un laboratoire très ancien, mal équipé, que Paul Langevin, entouré d'élèves parmi lesquels Maurice de Broglie, poursuivit au Collège de France ses premières recherches sur l'ionisation des gaz et découvrit les gros ions de l'atmosphère. L'insuffisance du laboratoire était telle qu'il fallut utiliser la table de l'amphithéâtre où il faisait ses leçons publiques pour installer une partie importante de ses appareils d'expériences. En dépit de la vétusté des locaux, Paul Langevin et ses élèves, grâce à des trésors d'ingéniosité et à de nombreux sacrifices, réussirent à effectuer de très belles recherches dans divers domaines de la physique. Des dizaines d'années se sont écoulées ainsi avant que les pouvoirs publics ne commencent à comprendre l'importance de la recherche dans la vie de la nation, et ce n'est que trop tard pour qu'il pût en profiter que la construction de laboratoires modernes fut entreprise au Collège; ceux-ci d'ailleurs ne sont pas encore achevés.

La grande influence de Paul Langevin ne s'exerça pas seulement par son enseignement et par la direction de travaux de recherche, mais encore à l'assemblée du Collège de France. Il y fit preuve d'une haute conscience. Fidèle à la mission historique du Collège, ses avis, toujours dictés par le seul intérêt de la Science et un grand sens de la justice, furent écoutés avec respect et souvent suivis.

Ce fut toujours avec une grande satisfaction intellectuelle que les membres de l'assemblée, littéraires et scientifiques, écoutèrent leur collègue Paul Langevin exposer les titres d'un candidat. Les sujets scientifiques les plus difficiles étaient rendus accessibles à tous et l'autorité du rapporteur était telle que le plus souvent l'on se ralliait avec confiance aux propositions qu'il soumettait.

Paul Langevin a rendu d'inestimables services à la vieille maison qu'il aimait tant et ceux, dont je suis, qui y accomplissent leur propre mission, ceux qui nous succéderont, auront toujours présents en leur mémoire l'activité et le dévouement exemplaires de leur grand collègue.

Laissons maintenant Paul Langevin nous dire sa joie d'avoir participé à l'effort scientifique du Collège de France. J'extrais les lignes que je vais vous lire du livre jubilaire composé à l'occasion du quatrième centenaire de cet établissement.

«Voici donc bientôt trente ans que j'enseigne dans cette maison. J'y ai connu de grandes joies au cours de cette période émouvante où notre Science s'est transformée sans cesse et renouvelée jusqu'en ses profondeurs. Je me suis efforcé de faire partager ces joies et d'aider de mon mieux, par mon propre travail et par mon enseignement, au grand mouvement qui, à travers les étapes successives des ions, des électrons, de la relativité et des quanta, a si profondément et si utilement retourné, labouré tout l'ensemble du champ de la physique pour y faire lever des moissons nouvelles dont nous pouvons déjà soupçonner la richesse». Puis, plus loin... «Je dois à la confiance de Mascart d'avoir pu continuer, pendant les trente années qu'a duré la nouvelle étape, particulièrement dramatique et dure (il fait allusion aux deux crises de la relativité et des quanta), l'effort qu'il avait renouvelé, dans le sens de la mission historique du Collège, pour ranimer la flamme et pour maintenir, par la recherche et par l'enseignement, une participation efficace et constante à la grande œuvre humaine de construction de la Science.»

C'est cette flamme que Paul Langevin sut ranimer et faire briller d'un vif éclat pendant plus de trente ans, flamme qui nous éclaira tous, que, le 30 octobre 1940, l'ennemi voulut étouffer en arrêtant Paul Langevin.

Je conserverai toujours le souvenir de la dernière leçon, qu'il donna sur l'histoire de l'électromagnétisme, nous indiquant, comme il en avait coutume, avant de quitter l'amphithéâtre, les questions qu'il traiterait à la prochaine leçon. Cette leçon n'a jamais eu lieu – Prisonnier à la Santé, déporté à Troyes, ses amis réussirent à le faire évader, 42 mois plus tard, en 1944. Il nous est revenu dès la libération pour nous guider dans la lutte qui continuait et travailler encore pour le bien de tous. Mais l'état de sa santé l'empêcha pour toujours de reprendre son enseignement au Collège de France.

J'évoquais à l'instant même cette ultime leçon. Mais la vie toute entière de Paul Langevin constitue en elle-même une leçon impérissable dont l'influence s'étendra à travers les générations à venir.

CONSTRUCTIONES

Tschechoslowakei

An der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Karls-Universität in Prag ist unter der Leitung von O. Jírovec ein neues parasitologisches Institut errichtet worden. Die Kultursammlung des Instituts enthält verschiedene Leptospiren-, Trichomonaden-, Strigomonaden- sowie auch freilebende Flagellatenstämme. In Tieren werden auch *Trypanosoma gambiense, rhodesiense, brucei, equiperdum, evansi* und *lewisi* sowie *Spirochaeta recurrens* gehalten. Die wissenschaftliche Arbeitsgemeinschaft, bestehend aus den Klinikern Hübschmann, Peter, Jírovec, Raska und B. Pokovni, befaßt sich mit der Chemotherapie und Epidemiologie der *Trichomonas vaginalis* und in Zusammenarbeit mit der Staatlichen Gesundheitsanstalt mit der Epidemiologie der Leptospirosen. Der Leiter der parasitologischen Abteilung und protozoologischen Abteilung des Instituts für allgemeine und experimentelle Zoologie ist ausländischen Instituten dankbar für Zusendung von parasitologischer und protozoologischer Literatur (Separata, Photokopien, einzelne Zeitschriftennummern).

Doc. Dr. Otto Jírovec
Parasitologische Abteilung,
Praha II, Vinična 7.

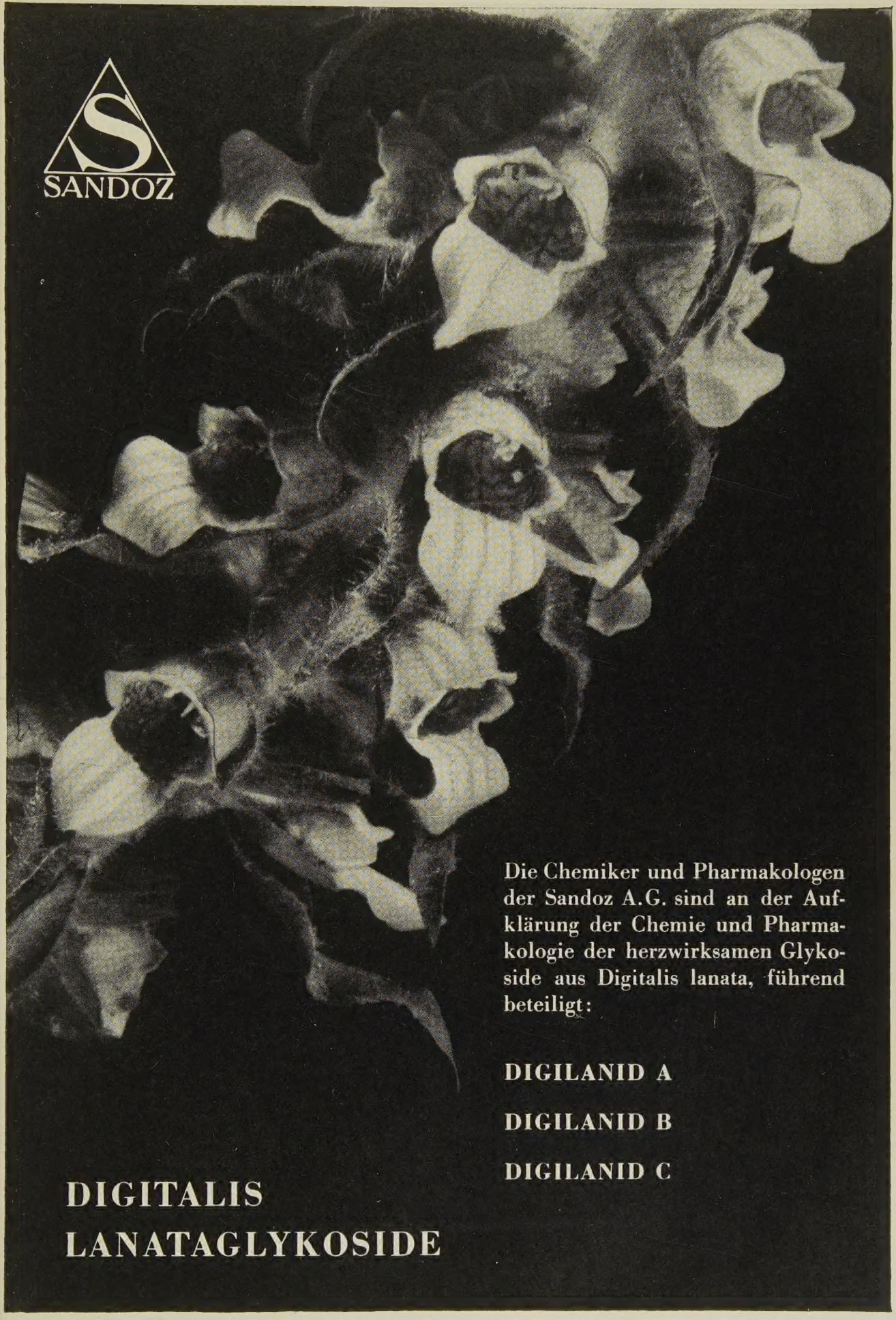
UNESCO

International Union of Biological Sciences
Unesco-Iubs Fellowships

Applications are invited for the following fellowships 1947:

Two at the Zoological Station, Naples (Italy),
One at the Marine Biological Station, Roscoff (France),
One at the Central Bureau for the Cultivation of Fungi, Baarn (Netherlands).

These fellowships are open to graduated students of biology in its widest sense from Universities all over the world. Duration of stay at least eight months. The value of each fellowship will be 750 dollars U.S.A. for students from Europe and 1000 dollars for students from outside Europe (travelling and lodging expenses included). Applications, stating qualifications and experience, and giving full information concerning the researches to be made, accompanied by two letters of recommendation by qualified biologists and if available one copy of earlier publications, should reach the Executive Committee of the International Union of Biological Sciences, c/o Professor Dr. M. J. Sirks, Genetisch Instituut, Huis de Wolf, Haren (Gron.) Netherlands, before October 1st, 1947.



SANDOZ

Die Chemiker und Pharmakologen der Sandoz A.G. sind an der Aufklärung der Chemie und Pharmakologie der herzwirksamen Glykoside aus Digitalis lanata, führend beteiligt:

DIGILANID A

DIGILANID B

DIGILANID C

DIGITALIS LANATAGLYKOSIDE

Nova Acta Paracelsica

JAHRBUCH DER SCHWEIZERISCHEN PARACELSUS-GESELLSCHAFT

I. Jahrbuch 1944: 192 Seiten und 5 Tafeln. 1944. Broschiert Fr. 8.50.

Inhalt: Hommage à René Allendy – Grundsätzliches zur Paracelsus-Forschung – Stand und Aufgaben der schweizerischen Paracelsus-Forschung – Die Kindheit Theophrasts in Einsiedeln – Paracelsus in der philosophischen Bewegung seiner und unserer Zeit – Paracelsus, der Arzt – Paracelsus, Stadtarzt von Basel – Das Formendenken des Paracelsus – Mythos und Logos im Weltbild des Paracelsus – Dr. Hans Locher über Paracelsus Anno 1851 – Paracelsus, seine Weltschau in Worten des Werkes – Paracelsus redivivus – Paracelsus – Paracelsus-Bibliographie.

II. Jahrbuch 1945: 199 Seiten. 1946. Broschiert Fr. 8.50.

Inhalt: Prof. Dr. Alfred Vogt † – Dr. med. Walter Gustav Deucher † – Die Basler Lektur des Theophrast – Paracelsus auf den deutschen Hochschulen – Alte und neue Paracelsus-Medaillen – Paracelsus und Agrippa von Nettesheim – Die paracelsische Astrologie – La psychiatrie de Paracelse – Paracelsus und die Seele der modernen Technik – Prolegomena zum Paracelsischen Buch über die Elementargeister – Zur Echtheitsfrage des «Liber de fundamento scientiarum sapientiaeque».

III. Jahrbuch 1946: 194 Seiten mit 1 Tafel und 3 Karten im Text. 1947. Broschiert Fr. 8.50.

Inhalt: Aus der Schweizerischen Paracelsus-Gesellschaft, Nachrichten – Glossen zum Paragranum oder Viersäulenbuch – Betrachtungen über Hohenheims Kommentare zu den Aphorismen Hippokrates' – Über Wesen und Zweck der sogenannten niedern Magie im Sinne von Paracelsus – Die Pathologie des Paracelsus – Ein Sozialprogramm bei Paracelsus – Paracelsus bei Schopenhauer – Plotin und Paracelsus über Horoskopie und Schicksal – Paracelsus und die Rosenkreuzer – Ist Augustin Hirschvogel der Monogrammist der authentischen Bildnisse von Paracelsus? – Wanderwege des Paracelsus von 1512–1525 – Zeittafel zu den Paracelsusreisen 1512–1524 – Verzeichnis der von Paracelsus besuchten Universitätsstädte – Karl Sudhoff, Reminiszenz.

Zu beziehen durch die Buchhandlungen

VERLAG BIRKHÄUSER - BASEL